P2 1356

ISSN 0484 8578

Tome 43 1978. Fascicule 1

REVUE DE MYCOLOGIE

Directeur Roger HEIM Membre de l' Institut

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D' HISTOIRE NATURELLE
12 rue Buffon, 75005 PARIS

BIBL. DU MUSEUM

Ouvrage publié avec le concours du Centre National de la Recherche Scientifique

Publication trimestrielle

SOMMAIRE

M.C. BOISSIERE. – Cytologie du *Peltigera canina* (L.) Willd. en microscopie électronique : le mycobionte à l'état végétatif. 1

J. MOUCHACCA. – *Desertella*, un nouveau genre d'Hyphomycète. . . . 71

F. GOURBIERE & M. MORELET. – Le genre *Rhizosphaera* Mangin et Hariot. 1. *R. oudemansii* et *R. macrospora* nov. sp. 81

J.M. YEN. – Étude sur les champignons parasites du Sud-Est asiatique. XXVIII. Douzième note sur les *Cercospora* de Malaisie. 97

R. BERTAULT. – Une Stéréacée nouvelle pour l'Europe : *Cyphellostereum pusiolum* (Berk. & Curt.) Reid 1965. 101

o
o o

Analyses bibliographiques 105

Les manuscrits doivent être adressés à Madame M.F. ROQUEBERT, Laboratoire de Cryptogamie, 12, rue de Buffon, 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

I 1956

Cytologie du PELTIGERA CANINA (L.) Willd. en microscopie électronique : LE MYCOBIONTE A L'ÉTAT VÉGÉTATIF**

Marie-Claude BOISSIERE*

RÉSUMÉ. — Des techniques appropriées ont permis d'examiner les organites et inclusions classiques des hyphes avec le souci particulier d'en suivre l'évolution depuis la marge du thalle en croissance jusque dans les régions différenciées. Des éléments liés à la vie symbiotique ont particulièrement retenu l'attention. Ainsi **les déformations du plasmalemme** peuvent former, soit des **villosités** profondes augmentant la surface d'échange, soit de véritables **lomasomes**, ou bien être à l'origine de structures rappelant les **mésosomes bactériens** impliqués dans un processus d'absorption des métabolites glucidiques d'origine algale. L'observation de la différenciation des hyphes associée à la mise en oeuvre de tests cytochimiques a permis de déceler deux lignées de vacuoles. **La première lignée** DAB + et Gomori – correspond aux vacuoles banales rencontrées dans le cortex et la médulle. **La deuxième lignée** DAB – et Gomori + se limite aux hyphes de la couche gonidiale; ce sont **des vacuoles autophagiques** pourvues d'un système hydrolasique provenant sans doute de lysosomes primaires. Le complexe «**mésosome - vacuole autophagique - lysosome primaire**» interviendrait dans l'absorption des glucides d'origine algale. Ce complexe a été observé tout d'abord chez le *Lichina pygmaea*, le *Leptogium palmatum*, puis reconnu chez le *Peltigera canina*. Les **corps concentriques** sont considérés comme des organites des hyphes lichénisées. D'origine inconnue, ils apparaissent dans la zone de multiplication des cellules de la marge du thalle. Très nombreux dans cette zone, leur nombre ne cesse de décroître au fur et à mesure que l'on s'en éloigne. Leur formation semble se limiter à la zone de multiplication, ces structures étant ensuite réparties passivement dans les différentes catégories d'hyphes du thalle différencié. Des digestions par des enzymes protéolytiques indiquent la **nature en partie protéique** de ces organites. Leur rôle demeure hypothétique. Leur structure peut s'interpréter comme étant constituée par un noyau central clair d'où part un ensemble de membranes rayonnantes imprégnées d'une substance granuleuse qui forme des couches concentriques plus ou moins denses aux électrons.

* Laboratoire de Biologie Végétale, Université Pierre et Marie Curie, UER 59, route de la Tour Denécourt, 77300 Fontainebleau.

** Ce travail représente la dernière partie d'une Thèse de Doctorat soutenue le 12 janvier 1978.

REVUE DE MYCOLOGIE, TOME 43 (1979).

Source : MNHN, Paris

La **nature des rapports** entre les partenaires a pu être précisée. Si un équilibre s'établit entre les symbiontes, on peut cependant noter que les hyphes de la couche gonidiale ont une activité métabolique importante; leurs caractères cytologiques rappellent ceux rencontrés chez les hyphes intramycéliennes et les haustoriums des parasites.

SUMMARY– Special technics have allowed to investigate common structures and inclusions in hyphae with the principal care to follow evolution from the growing periphery of the thallus until quite differentiated areas. Some structures are characteristic of Lichen fungi and we are specially interested by them. So the plasmalemma of lichenized fungi is strongly **invaginated** especially when hyphae are close to blue-green algae cells. This differenciation enlarges the protoplast surface and it is considered as an adaptation which emphasizes the exchanges between the symbionts. The plasmalemma of mycobiont contains **lomasomes** and may be at the beginning of «**mesosome like**» **structure**. These are involved in an absorption mechanism of algal glucids. The observation of the differentiation of lichenized hyphae, connecting with cytochemical tests have allowed to display two strains of vacuoles.

The **first strain DAB + and Gomori** – corresponds to common vacuoles found in cortical and medullar hyphae. The **second strain DAB – and Gomori +** is only met in the hyphae of the algal zone; they are called autophagic vacuoles and contain hydrolases supplied by primary lysosomes. The system «**mesosome like**» **srtucture - autophagic vacuole - primary lysosome** would participate in absorption of carbohydrates coming from blue-green algae. This complex has been observed at first in the *Lichina pygmaea*, the *Leptogium palmatum* and then recognized in the *Peltigera canina*. **The concentric bodies** are characteristic of Lichen fungi. Their origin is unknown; they appear in an area of cellular multiplication which is localized in the growing periphery of the thallus. Numerous in this zone, their number diminishes as we move off this place. They are formed in the zone of the cellular multiplication then they are passively distributed in all differentiated hyphae of the thallus.

After using proteolitic enzymes, it was concluded that concentric bodies are **in part proteinaceous**. If their role remains unknown, precise details are given about their structure. Concentric bodies consist of an electron transparent core from which a radiating system of unit membranes are arising. Unit membranes are impregnated by a more or less electron opaque granulous substances. The concentric layers surrounding the central core are constituted by this granular substances.

The **nature of relationship** between fungus and blue green algae is considered. Although there is an harmonious equilibrium between two partners, hyphae of algae layer have an important metabolism and their ultrastructural characters look like those of intrahyphal hyphae and haustorium of parasitic fungus.

INTRODUCTION

Au cours de précédents travaux, nous avons été amenée à faire tout d'abord une étude générale donnant l'aspect cytologique en microscopie électronique des constituants du *Peltigera canina* (L.) Willd., (1972), puis nous nous sommes intéressée à la structure fine du *Nostoc* symbionte de ce Lichen, comparée à celle du *Nostoc* libre (1976). Nous nous attachons maintenant, dans cette troisième partie, à l'étude cytologique du mycobionte à l'état végétatif, en microscopie électronique.

Le mycobionte est le plus souvent un Discomycète ou un Pyrénomycète. Dans son ensemble, sa morphologie et sa cytologie diffèrent peu de celles du Champignon à l'état libre. Ainsi le Champignon lichénisé présente une paroi,

Source : MNHN, Paris

des septums semblables; les constituants protoplasmiques classiques y sont présents : plasmalemme, lomasomes, plusieurs noyaux, réticulum endoplasmique, ribosomes, mitochondries; des enclaves cytoplasmiques analogues y sont aussi observées : globules lipidiques, glycogène, corps de Woronin. Toutefois, on observe aussi des différences importantes entre les mycobiontes et les champignons libres. Elles résultent de la vie symbiotique; voici celles qui concernent les hyphes lichénisées de Lichens à Chlorophycées ou Cyanophycées.

La morphologie de l'hyphe se modifie selon son âge et sa position dans le thalle (JACOBS et AHMADJIAN, 1969). Sa paroi présente deux couches principales, mais avec des subdivisions possibles allant jusqu'à la différenciation de cinq couches. Cette «lamination» de la paroi pourrait d'ailleurs être due non seulement à sa différenciation, mais aussi à un agent physique ou à l'action des fixateurs (HAYES, 1973). Selon JACOBS et AHMADJIAN (1969), son épaisseur peut varier en fonction de l'âge et de la position de l'hyphe dans le thalle.

Ces mêmes auteurs remarquent, à propos du Lichen aquatique *Hydrothyria venosa* (1973), que le mycobionte, quelle que soit sa position dans le thalle, est enrobé par une couche fibrillaire de polysaccharides extracellulaires, et que l'épaisseur de la paroi des hyphes du cortex est plus importante. De même FASHSELT (1973) observe, chez le *Parmelia aurulenta*, que la paroi des hyphes des rhizines et du cortex inférieur comporte plusieurs couches de densités variables aux électrons. Les observations réalisées en microscopie à balayage par cet auteur donnent une idée concrète de l'orientation des hyphes médullaires et des rapports qui peuvent exister entre les hyphes du cortex inférieur et les rhizines; elles montrent aussi qu'une substance amorphe soude les hyphes corticales entre elles.

Les hyphes de la couche gonidiale présentent certaines particularités. ELLIS (1975), à propos de *Chiodecton sanguineum*, indique que la paroi du mycobionte s'amincit lorsque l'hyphe est en contact avec le phycobionte.

Les septums des hyphes lichénisées peuvent être uni - ou multiperforés. WETMORE (1973) énumère les auteurs qui ont observé en microscopie optique et électronique des septums uniperforés dans les hyphes d'Ascomycètes; des septums analogues sont connus dans les hyphes lichénisées, (JACOBS et AHMADJIAN, 1969). L'existence de septums multiperforés dans les hyphes lichénisées n'était connue qu'en microscopie optique, mais l'auteur a montré qu'on peut aussi en observer en microscopie électronique. On peut noter toutefois que la première observation de septums multiperforés en microscopie électronique chez les Lichens a été faite sur le *Peltigera canina* (BOISSIERE M.C., 1972). De nombreux septums multiperforés ont été observés par WETMORE chez trois espèces de *Peltula*, chez le *Peltigera canina*, le *Peltigera aphtosa* et l'*Hydrothyria venosa*, espèces chez lesquelles des septums uniperforés sont aussi présents, et même en plus grand nombre. Les septums multiperforés se rencontrent surtout dans les hyphes médullaires; des corps de Woronin sont associés aux pores septaux. Les pores facilitant le mouvement des substances nutritives et de l'eau entre les cellules, des pores supplémentaires viendraient

Source : MNHN, Paris

améliorer ce mouvement. La formation des pores se ferait, soit par la non fermeture de la lame septale en formation, soit par dissolution. WETMORE envisage la signification des septums multiperforés par rapport à la phylogénie, à l'habitat, à la nature du phycobionte, sans trouver de réponse.

Le plasmalemme des hyphes gonidiales est particulièrement sinueux. D'après PEVELING (1969) ces invaginations sont, en rapport avec les échanges qui s'opèrent entre les symbiontes. Elles peuvent aussi participer à l'édification des parois (BOISSIERE J.C., 1972). Les replis du plasmalemme peuvent se compliquer et conduire à la formation d'un «mesosome like body», observé par PEVELING (1972) chez le *Lichina pygmaea*. Cette structure, peut-être liée à la vie symbiotique, jouerait pour cet auteur, un rôle dans l'absorption, la synthèse, puis l'accumulation de glycogène. L'utilisation d'un test spécifique des polysaccharides n'a pas confirmé la présence de glycogène, mais permet cependant d'interpréter ce «mésosome» comme un site effectivement responsable de l'absorption des polyglucosides (BOISSIERE M.C., 1977).

Les cellules âgées produisent des vacuoles et des corps multivésiculaires dont le rôle pourrait être de conserver une pression osmotique constante dans le thalle, ou de jouer un rôle de stockage du matériel métabolique, ou encore d'avoir une fonction secrétrice (JACOBS et AHMADJIAN, 1973).

La vie symbiotique fait apparaître chez le mycobionte un organite particulier, connu sous le nom de «corps concentrique». GRIFFITHS et GREENWOOD (1972) en ont fait une étude générale dans les hyphes lichénisées de diverses espèces. Ils rappellent que ces organites furent mentionnés pour la première fois par BROWN et WILSON (1968) chez le *Physcia aipolia*, sous le nom d'«ellipsoidal bodies». C'est à PEVELING (1969) que l'on doit le terme de «corps concentriques», qu'elle mit en évidence chez le *Peltigera canina*, le *Peltigera rufescens* et le *Leptogium hildenbrandii*. JACOBS et AHMADJIAN (1969) établirent la présence de ces corps chez onze espèces différentes de Lichens et ces mêmes auteurs trouvèrent des corps concentriques chez une espèce synthétisée en laboratoire : l'*Endocarpon pusillum* (1970). Les corps concentriques semblent liés à la vie symbiotique, car ils ne se rencontrent que dans les hyphes lichénisées. JACOBS et AHMADJIAN (1969) émettent l'idée que cette structure serait commune à tous les Lichens, cependant PARAN et al (1971) montrent que les hyphes de deux espèces de *Gonohymenia* en sont dépourvues.

GRIFFITHS et GREENWOOD (1972) dressent l'inventaire des espèces de Lichens dont le mycobionte montre des corps concentriques, ils se réfèrent soit à des travaux déjà publiés, dont ils examinent les photographies électroniques, soit à leurs propres observations. Ils parviennent ainsi à l'examen de quarante trois espèces. Ces auteurs ont ensuite abordé l'étude proprement dite des corps concentriques : position, localisation, structure fine, technique de mise en évidence. Leur origine et leur rôle restent encore du domaine de la spéculation.

Des précisions ont été apportées sur la nature chimique de ces corps par GALUN et al. (1974). Après action d'enzymes protéolytiques (pronase, pepsine) sur des coupes flottantes d'*Aspicilia* sp., les corps concentriques du mycobionte

Source : MNHN, Paris

sont digérés; des coupes témoins permettent de conclure à la composition en partie protéique de ces organites. En outre, GALUN étudie l'action de la chaleur sur ces corps, dont la résistance serait supérieure à celle du cytoplasme. Les corps concentriques, structure propre aux Lichens, sauf exception, sont en général uniquement localisés dans les hyphes végétatives du mycobionte, mais toutefois on en a trouvé dans les ascospores du *Rhizocarpon geographicum* (ASCASO et GALVAN, 1975).

Un autre aspect de l'étude du mycobionte des Lichens, qui a attiré préférentiellement l'attention des chercheurs, est celui de son comportement vis à vis du phycobionte. Les rapports entre les partenaires peuvent aller du simple contact jusqu'à la pénétration plus ou moins complète du champignon dans la gonidie, sous la forme d'un haustorium. Beaucoup d'auteurs ont signalé en microscopie optique et électronique l'existence d'haustoriums, sans cependant toujours tenter d'établir une corrélation entre l'ultrastructure et les relations physiologiques possibles entre les symbiontes.

WEBBER et WEBBER (1970), travaillant sur le *Parmelia sulcata*, ont porté leur attention sur la structure fine de l'haustorium, le site de sa pénétration et sa signification physiologique. Ils observent que le cytoplasme de l'haustorium est distinct de celui de l'hyphe, qu'il contient des «lysosome-like organelle», des mésosomes et souvent de nombreuses mitochondries. La présence de mésosomes et de lysosomes suggère aux auteurs que la pénétration se fait par la digestion enzymatique de la paroi algale, et non par un déchirement de nature purement physique; ultérieurement interviendrait la digestion du contenu cellulaire de la gonidie. Les nombreuses mitochondries témoigneraient d'une activité métabolique accrue.

GALUN et al (1971) étudient les relations algue-champignon chez les Lichens de la famille des Téloschistaceae; ils constatent que chez les espèces évoluées, comme le *Xanthoria parietina* et le *Caloplaca aurantia*, il se produit un simple contact paroi à paroi, mais que si l'algue est sénescente, elle est envahie par le champignon. Puis GALUN et al. (1973), toujours à propos des relations entre les symbiontes, choisissent pour leur étude, des Discolichens et des Pyrénolichens et en font la comparaison. Pour les Pyrénolichens *Dermatocarpon hepaticum*, *Verrucaria* sp. (épilithique) et *Verrucaria* sp. (endolithique), dont la gonidie est une Chlorophycée différente pour chacune des espèces, les parois respectives des partenaires se désagrègent, le protoplasme du mycobionte, entouré du seul plasmalemme, fait saillie dans l'algue. Pour les Discolichens à Chlorophycées, il ne se produit pas de saillie nue du mycobionte et pas de désintégration préalable de la paroi avant invasion; l'haustorium conserve sa paroi. Dans les deux groupes, si la gonidie est âgée, il se forme un haustorium intracellulaire, chez les Pyrénolichens, le mode de contact serait déterminé par le Champignon.

HAYES et al. (1973), à propos du *Xanthoria fallax*, montrent qu'il s'établit un simple contact de paroi entre les partenaires. Les parois respectives des symbiontes s'amincissent au point de contact, surtout en ce qui concerne le mycobionte. Il peut apparaître des haustoriums intracellulaires qui pénètrent

Source : MNHN, Paris

la paroi algale, amincie au lieu de pénétration, et qui peuvent atteindre le centre de la cellule du phycobionte.

L'étude de FAHSELT (1973) sur le *Parmelia aurulenta*, en microscopie à balayage, donne une image concrète des relations qui existent entre l'algue et le champignon. Les gonidies apparaissent ceinturées en partie par une enveloppe d'origine fongique. Les hyphes ainsi appliquées ont une paroi amincie. Les haustoriums intracellulaires sont rares, mais quelquefois présents. Un haustorium naissant montre un amincissement des parois des symbiontes au point de contact, ainsi que le rapprochement des protoplasmes respectifs.

Le rôle de ces haustoriums est-il bénéfique pour le champignon? C'est encore une énigme (GALUN, 1973).

Des travaux qui précèdent, il ressort que les principaux centres d'intérêt sont en premier lieu la description des rapports morphologiques entre le Champignon et la gonidie Chlorophycée. Les déformattions variées du plasmalemme, leur interprétation en rapport avec la vie symbiotique ont également retenu l'attention. La présence de corps concentriques, dont la structure, la nature et le rôle sont loin d'être élucidés en détail, pose une énigme qui excite la curiosité des lichénologues.

Après avoir parcouru l'ensemble des articles traitant de la cytologie des Lichens, il nous a paru que certains points n'avaient pas été précisés. Ainsi, étudier la cytologie fine des constituants lichéniques sans pouvoir situer exactement à quel stade de différenciation cellulaire se trouve le matériel ne peut donner qu'une vision ponctuelle d'un phénomène évolutif. Il est à remarquer en effet que les cytologistes n'ont indiqué que sommairement la région du thalle dont provenait leur prélèvement. A notre avis l'étude d'un organite doit commencer depuis le matériel cellulaire le plus indifférencié jusqu'aux parties âgées, voire sénescentes, du thalle.

Nous avons constaté aussi qu'en ce qui concerne la cytologie fine du mycobionte, peu de techniques nettement adaptées avaient été mises en oeuvre pour la connaissance cytochimique des constituants protoplasmiques.

L'ensemble de ces raisons nous a fait rédiger, dès 1971, un premier article, très général, que nous avons intitulé «Premières observations»; nous y analysons le processus d'édification du thalle par l'observation de la marge d'un lobe en croissance. Cette démarche permet de localiser l'endroit où le matériel jeune est le plus indifférencié et de suivre son devenir dans les différentes orientations possibles de la différenciation. Quelques observations inédites sur la cytologie du *Peltigera canina* ayant été obtenues, il convenait aussi de les consigner sans tarder dans ce premier article. L'étude du mycobionte a bénéficié entre temps de résultats acquis chez d'autres Lichens cyanophiles, tels le *Lichina pygmaea* (Lightf.) A.C. Ag., et le *Lichina confinis* (Müll.) A.C. Ag., (BOISSIERE M.C., 1977). En effet, les foisonnements plasmalemmiques observés chez ces espèces dans les hyphes proches des gonidies, sont plus nombreux et plus régulièrement associés à d'autres ultrastructures que chez le *Peltigera canina*. Leur interprétation plus aisée sur ce matériel, a été transposée au mycobionte du *Peltigera canina*. Certaines techniques différentes de celles utilisées lors de nos travaux

Source : MNHN, Paris

précédents sont employées, elles seules seront indiquées. L'étude systématique du contenu protoplasmique des hyphes est abordé, en essayant, lorsque c'est possible, de choisir une méthode de visualisation (fixateur, pH, contrastant) qui tienne compte de la nature chimique de l'organite ou de l'inclusion : c'est ce qui est rapporté dans le chapitre sur «les Constituants classiques des hyphes».

Un certain nombre d'éléments protoplasmiques sont examinés plus soigneusement : ceux pour lesquels nous avons noté des différences par rapport aux structures connues des Ascomycètes libres. Les différences observées peuvent en effet être le reflet de l'influence de la vie symbiotique sur les partenaires. L'étude des corps concentriques en particulier occupe une grande partie de ce travail. Les différentes catégories d'hyphes (cortex, couche gonidiale, médulle, rhizine) sont étudiées dans la mesure où elles présentent des caractères distinctifs bien tranchés. Ces hyphes représentent les étapes ultimes de la différenciation du matériel fongique dans des voies divergentes à partir de la zone de multiplication de la marge du thalle.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Nos observations ont porté principalement sur la structure fine du *Peltigera canina* (L.) Willd., récolté dans le massif forestier de Fontainebleau. Nous avons étudié le *Lichina pygmaea* (Lightf.) A.C. Ag. et le *Lichina confinis* (Müll.) A.C. Ag. tous les deux récoltés à Roscoff (Nord Finistère), pour l'observation d'une structure mésosomienne particulièrement nette. Les échantillons ont été récoltés dans la nature, après une période humide de préférence, sinon ils ont été maintenus en atmosphère humide sur un disque de papier filtre mouillé, dans une boîte de Pétri placée près d'une fenêtre, pendant quelques jours.

Les techniques classiques de microscopie électronique, déjà mentionnées pour notre étude générale (1972), ont été reprises ainsi que d'autres, citées dans notre article sur le phycobionte (1976) et utilisées pour la mise en évidence de structures et d'organites particuliers; nous les mentionnerons sans toutefois en rappeler le protocole. Celles auxquelles il est fait appel uniquement pour l'étude de certaines structures ou pour la mise en évidence d'activités physiologiques propres au mycobionte, seront décrites au moment voulu.

1) Mise en évidence des polysaccharides totaux (PAS) en microscopie électronique par la technique de THIERY (1967) : voir BOISSIERE M.C., 1976.

2) Mise en évidence d'une activité adénosine triphosphatasique à pH neutre : voir BOISSIERE M. C., 1976.

3) Mise en évidence des phosphatases acides selon GOMORI.

Fixation du matériel dans la solution de KARNOVSKY (1965) glutaraldéhyde-paraformaldéhyde à 3% dans un tampon cacodylate à pH 7,2 pendant 3 h 30 mn à 4°, suivie d'un lavage dans le même tampon, additionné de saccha-

Source : MNHN, Paris

rose à 7,5%, pendant quatre heures, puis d'un lavage dans un tampon citrate 0,2 M à pH 4,8 à 4° pendant 20 mn; enfin lavage rapide dans eau saccharosée à 7,5%. Selon les recommandations de SEXTON (1971), nous avons utilisé des morceaux de thalle assez gros pour la fixation et les lavages successifs, puis nous avons effectué un redécoupage du matériel juste avant l'incubation dans le milieu de GOMORI. Celle-ci a été effectuée à froid pendant 9 heures, puis à chaud (37°) pendant 1h 15mn. Le matériel incubé est ensuite lavé dans l'eau saccharosée puis postomié pendant 2h. et lavé dans le tampon cacodylate dilué. Un milieu témoin est réalisé par suppression du substrat: le β-glycérophosphate de sodium.

4) Mise en évidence de l'activité peroxydasique

Fixation du matériel dans le fixateur de KARNOVSKY avec tampon cacodylate 0,2 M à pH 7,2 pendant 4 h à 4°. Lavage dans le même tampon additionné de saccharose à 10% pendant une nuit, suivi de deux lavages de 5 mn dans un tampon Tris HCl à pH 7,2. L'incubation est réalisée dans le milieu suivant, pendant 1 h 30 mn à 37°.

- 3-3 diaminobenzidine (DAB)	5 mg.
- H_2O_2 à 1%	0,2 ml.
- Tampon Tris HCl 0,1 M à pH 7,6	9,8 ml.
- Saccharose	0,7 g.

Elle est suivie d'un lavage dans le tampon Tris HCl à pH 7,2 puis d'une postfixation au tétroxyde d'osmium à 1% pendant 2h. Lavage dans le même tampon, déshydratation à l'acétone et inclusion dans l'araldite. Un milieu témoin est réalisé par suppression de l'eau oxygénée.

5) Tests enzymatiques

Pour ces tests, fixation de KARNOVSKY dans un tampon PO_4 à pH 7,2 pendant 5h, à température ambiante; lavage dans tampon et postfixation dans Os O_4 à 1% pendant 2h à 4°. Déshydratation dans l'éthanol, inclusion dans l'épon. Les coupes sont déposées sur grilles d'or. Avant traitement enzymatique, on effectue le blanchiment des coupes par flottage des grilles pendant 10mn sur une solution de H_2O_2 à 15% dans HCl 0,1 N.

L'hydrolyse enzymatique est réalisée par flottage des grilles dans l'étuve à 37° pendant 1h sur l'une des solutions suivantes: pepsine, 5mg pour 1ml de HCl à 0,1 N; pronase, 5 mg pour 1ml de tampon PO_4 à pH 7,2 et trypsine, 5mg pour 1ml d'eau amené à pH 8 par de la soude diluée. Les coupes traitées et les coupes témoins (absence d'enzymes) sont issues du même bloc et sont colorées ensemble par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb.

6) Réactif des groupements électropositifs des protéines : Acide phosphotungstique en solution acide à bas pH. Voir BOISSIERE M.C., 1976.

Le plus souvent le matériel fixé est déshydraté dans des solutions d'éthanol de titre croissant, passé dans deux bains d'oxyde de propylène, chacun de 20 mn et inclus dans l'araldite, l'épon «812» et surtout dans l'épon selon SPURR (1969) de consistance «ferme».

Source : MNHN, Paris

RÉSULTATS

I. SCHÉMA DE L'ORGANISATION GÉNÉRALE DES HYPHES LICHÉNIQUES

La figure 1 résume cette organisation. Il s'agit d'un schéma synthétique destiné à dresser une liste complète des organites rencontrés dans les articles des hyphes, mais en fait il n'est pas possible de les observer tous dans un même article.

II. DIFFÉRENTES CATÉGORIES D'HYPHES SUIVANT LA RÉGION DU THALLE CONSIDÉRÉE

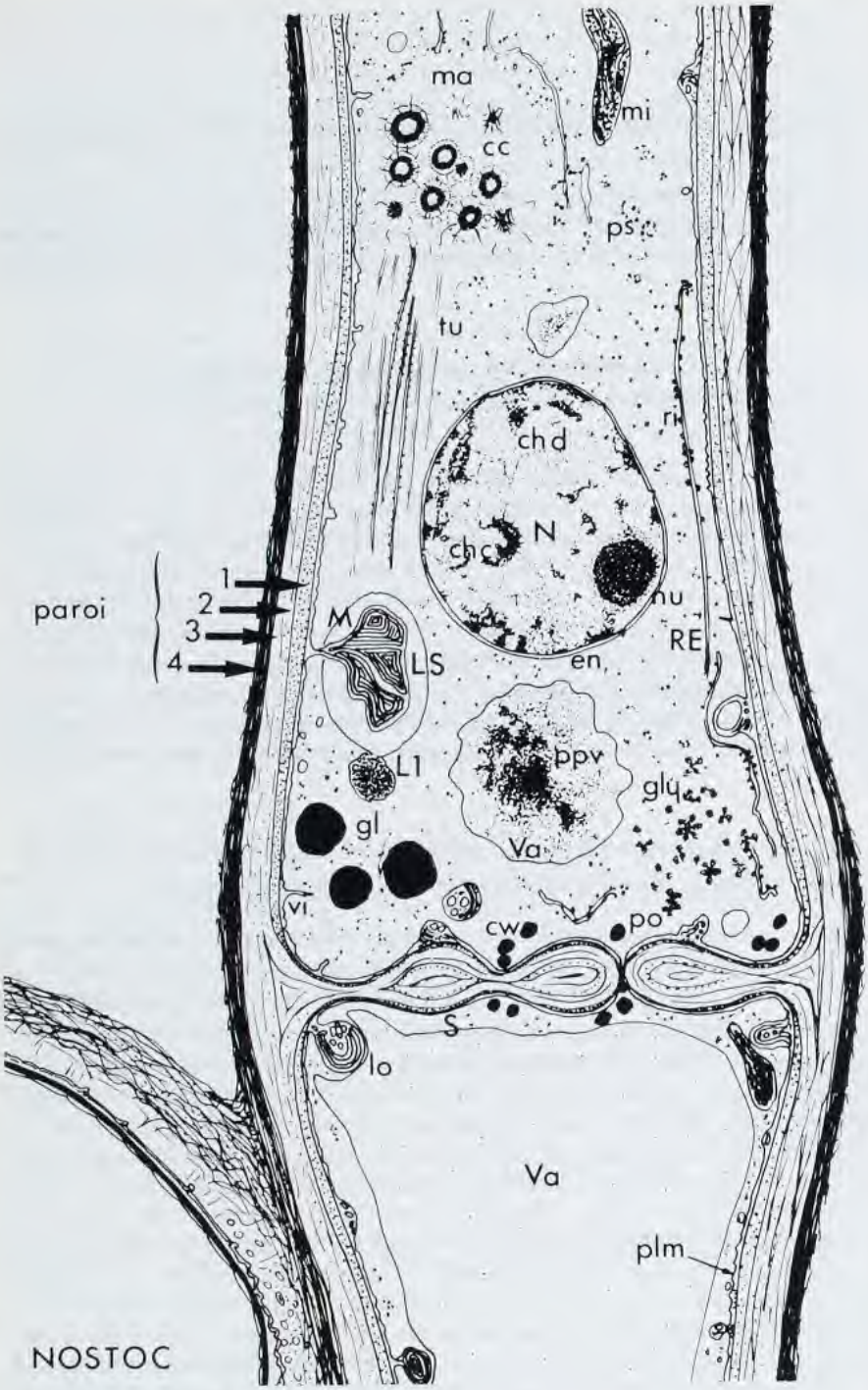
Le thalle du *Peltigera canina* présente une structure hétéromère, c'est-à-dire que dans son épaisseur on distingue différentes couches, au niveau desquelles les partenaires sont inégalement répartis. La face supérieure et la face inférieure sont également distinctes. A ces couches distinctes correspondent les zones appelées zone corticale ou cortex supérieur, zone gonidiale et zone médullaire (fig. 2, pl. I). Il n'y a pas de cortex inférieur. Dans toutes les zones, le mycobionte est présent, mais sa morphologie diffère de l'une à l'autre. Nous étudierons donc séparément les hyphes corticales, les hyphes en contact avec les gonidies Cyanophytes et les hyphes médullaires. Mais avant d'examiner leur différenciation respective, il est nécessaire de rappeler le processus de leur mise en place.

1) Mise en place des différents «tissus» du thalle : interprétation comme exemple d'une structure cladomienne multiaxiale.

Lors de notre interprétation sur la croissance marginale du thalle (1972) nous avions distingué dans la région où se fait cette croissance, les zones 1, 2, 3, 4 et 5 (Z1, Z2, Z3, Z4, Z5). Nous avions situé la zone de multiplication maximale en Z2, immédiatement en arrière de la marge (50μm du bord). Les hyphes y présentent un cytoplasme dense, peu vacuolisé, riche en corps concentriques. Quelques gonidies isolées y sont mêlées. Le matériel cellulaire fongique s'édifie à partir de cette zone. Dorsalement, il est représenté par des files de cellules arquées, aux articles courts, serrées les unes contre les autres, qui constitueront le cortex dorsal et la couche gonidiale (Z3), (LETROUIT-GALINOU et LALLEMANT, 1971, fig. 20). Le matériel édifié ventralement fournit des files de cellules beaucoup plus lâches et entremêlées, qui constituent la base de la médulle (Z5). Le matériel accumulé en arrière de la zone de multiplication (Z4) se présente sous forme d'hyphes également entremêlées, mais dont la direction générale est horizontale et longitudinale par rapport au lobe étudié. Ces hyphes qui, à 125μm du bord, sont responsables de la croissance du thalle, repoussent vers la périphérie, par leur allongement, le matériel cellulaire de la zone 2 (fig. 1, pl. I).

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

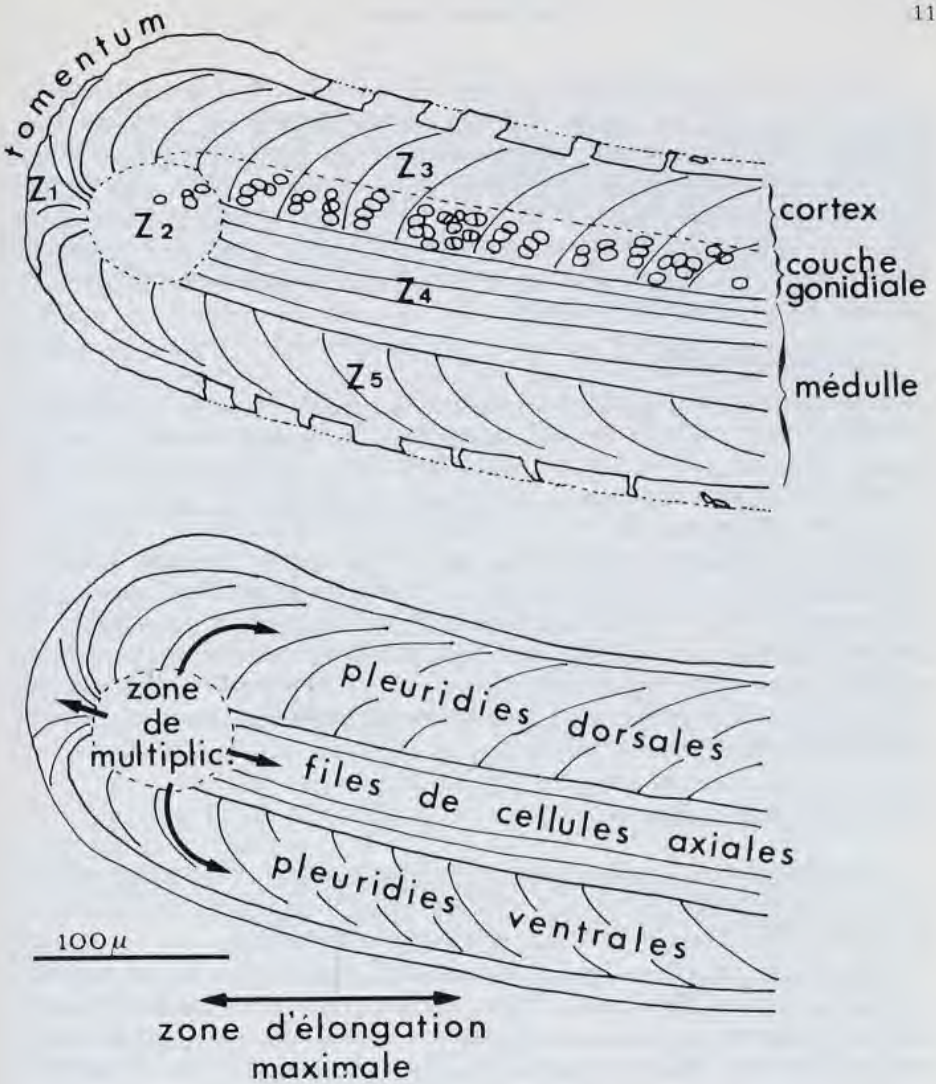


Fig. 2. — **Morphogénèse du thalle**: coupe verticale dans la marge. Z1, cellules précocement différenciées, à l'origine du tomentum périphérique et superficiel de la marge; Z2, zone de multiplication maximale (hyphes et gonidies); Z3, pleuridies dorsales, à l'origine du cortex et de la couche gonidiale; Z4, files de cellules axiales qui repoussent Z2 et donnent ensuite la médulle; Z5, pleuridies ventrales à l'origine de la base de la médulle.

Fig. 1. — **Schéma d'organisation d'une hyphe lichénique.** cc, corps concentrique; chc, chromatine condensée; chd, chromatine dispersée; cw, corps de Woronin; en, enveloppe nucléaire; gl, globule lipidique; gly, glycogène; L1, phytolysosome primaire; lo, lomasome secondaire ou vacuole autophagique; M, figure «mésosomienne»; ma, matrice d'un groupe de corps concentriques; mi, mitochondrie; N, noyau; nu, nucléole; Ph, paroi de l'hyphe avec ses couches, 1, 2, 3 et 4; plm, plasmalemme; po, pore dans un septum; ppv, précipité vacuolaire; ps, polysome; RE, réticulum endoplasmique; ri, ribosome; S, septum; tu, faisceaux de microtubules; Va, vacuole; vi, microvillosités du plasmalemme. Remarque: les couches 2 et 3 de la paroi ne peuvent être séparées sans la mise en oeuvre d'une technique appropriée.

Source : MNHN, Paris

Ces hyphes coïncident avec le sommet de la médulle. En avant de la zone 2, quelques files d'articles courts édifiés en éventail, constituent l'extrême bord du thalle (Z1). Ce sont des hyphes dont la paroi s'épaissit très rapidement et brunit légèrement; elles constituent un tomentum brunâtre, discontinu, observable au fort grossissement de la loupe binoculaire. Plus loin la base de ces files de cellules est incorporée au cortex dans la région dorsale et à la médulle dans la région ventrale. La figure 2 résume notre interprétation sur la mise en place des différents «tissus» du thalle.

Interprétation cladomienne

Il est possible d'interpréter cette construction du thalle par la multiplication et l'allongement d'hyphes formant un système de filaments axiaux et longitudinaux recouvert par un appareil pleuridien. Cette structure est comparable à celle des algues cladomiennes multiaxiales (CHADEFAUD, 1960 et 1968). Comme le soulignent LETROUIT-GALINOU et LALLEMANT (1971), les pleuridies dorsales sont beaucoup plus développées que les ventrales. Toutefois notre interprétation diffère de la leur sur quelques détails. Nous localiserons nos hyphes axiales longitudinales plus haut dans le thalle et pas uniquement dans les veines de la médulle. D'autre part, en avant des filaments axiaux longitudinaux, nous observons quelques pleuridies (?) disposées en éventail, plus précocement différenciées, qui fournissent le tomentum recouvrant d'une manière lâche les marges du thalle.

2) Les hyphes corticales

L'ensemble de ces hyphes constitue le cortex supérieur. Elles se caractérisent par des articles courts intimement soudés par un ciment réagissant positivement au test de THIÉRY, ce qui précise sa nature polysaccharidique.

Chacune des hyphes corticales est constituée par des articles relativement courts, mesurant 12000 nm sur 9000 nm en moyenne; leur paroi, évaluée à 400 nm, est moins épaisse que celle des hyphes médullaires à septums multiperforés (600 nm), mais par contre, beaucoup plus que celle des hyphes gonidiales (190 nm).

Leur ensemble forme un système de files verticales qui parcourent toute l'épaisseur du cortex et y constituent un «faux tissu» du type plectenchyme, rappelant par son aspect le parenchyme des plantes vasculaires (fig. 3, pl. II). Les articles de ces hyphes sont disposés bout à bout et séparés l'un de l'autre par un septum uniperforé, au niveau duquel s'observe parfois un étranglement. Ces hyphes sont ramifiées, et à la base de chaque ramification se distingue un septum oblique par rapport à la surface du thalle. Constitué par ces hyphes, le cortex forme un ensemble homogène et compact. Il existe cependant sur la surface, des hyphes d'un type particulier : souvent pelotonnées, parfois éparses, elles ont environ 4000 nm de diamètre. Leur paroi est très épaisse (650nm) et un ciment abondant les réunit au cortex. Nous avons vu l'origine de ces hyphes : elles proviennent de l'extrémité de pleuridies situées en avant de la zone de multiplication (Z2), disposées en éventail, et dont la base s'incorpore

Source : MNHN, Paris

au cortex.

Du point de vue de leur structure interne, les hyphes du cortex se distinguent des autres hyphes par leur vacuolisation, (fig. 4, pl. II). En effet celles qui sont situées sur le bord du thalle qui est une zone de croissance montrent de nombreuses petites vacuoles, par contre, dans une zone du thalle bien différenciée, cette même catégorie d'hyphes n'offre plus qu'une ou deux grandes vacuoles issues de la fusion des précédentes. Le cytoplasme occupe alors une position pariétale et contient les éléments habituellement rencontrés: plasmalemme, ribosomes, réticulum endoplasmique, noyaux, lomasomes, mitochondries et corps concentriques, ces derniers étant plus abondants dans les hyphes de la zone en croissance. Glycogène et globules lipidiques sont souvent présents surtout à la base du cortex.

3) Les hyphes de la couche gonidiale

Cette couche est peu épaisse; elle est aisément reconnaissable par la présence de l'élément cyanophytique, (fig. 5, pl. III). Ses hyphes sont constituées par des articles aux dimensions plus modestes que celles trouvées dans les hyphes corticales (4500nm sur 1850 nm). Quant à leur paroi, beaucoup plus réduite, elle ne mesure que 180nm; elle est particulièrement mince surtout lorsque l'hyphe est au contact d'une gonidie. Ces hyphes ont très souvent une forme contournée, elles s'insinuent entre les cellules du phycobionte avec lequel le contact peut être très intime allant jusqu'à provoquer un amincissement considérable de la paroi du Champignon et la disparition de la coque de la Cyanophyte (fig. 6, pl. III).

Les articles du Champignon sont séparés par des septums uniperforés dont la perforation est souvent obturée par des corps de Woronin. Ils subissent par endroits des étranglements réduisant notablement leur largeur; cela leur permet de s'insinuer entre les gonidies; ensuite l'extrémité de l'hyphe subit une dilatation lui donnant l'aspect d'une ampoule. La forme tourmentée de l'hyphe permet difficilement de donner une estimation exacte de son diamètre. Non seulement sa morphologie se trouve modifiée par la présence de la Cyanophyte, mais son ultrastructure également.

Tous les éléments constitutifs des articles sont présents mais certains en plus grand nombre. Le plasmalemme forme des replis très amples s'enfonçant dans le cytoplasme; à de tels replis PEVELING (1969) a donné le nom de «Plasmazotten». Les lomasomes, autres différenciations du plasmalemme, sont en grand nombre dans chaque article. Il en est de même pour les noyaux. On observe aussi des vacuoles qui peuvent être nombreuses avec un tonoplaste contourné, des ribosomes, des éléments du reticulum endoplasmique, des mitochondries et des corps concentriques situés près du noyau. D'abondantes réserves de glycogène et de globules lipidiques sont visibles; des formations rappelant les mésosomes bactériens ont été décelées dans les hyphes gonidiales du *Peltigera*. On les retrouve dans celles des deux *Lichina* étudiés, mais en plus grand nombre. Nous donnerons dans un chapitre à part la signification de cette formation.

Source : MNHN, Paris

4) Les hyphes médullaires

Les hyphes de cette zone forment une couche lâche, aérée, dont l'épaisseur est supérieure à l'ensemble du cortex et de la couche gonidiale. L'épaisseur des différentes zones peut d'ailleurs varier considérablement en fonction de la station de récolte du Lichen; les thalles sont bien plus épais en station ensoleillée (forme *spongiosa* Del.) et beaucoup plus minces en station ombragée (forme *membranacea* Ach.).

Ces hyphes ont le plus souvent une direction parallèle au cortex. Elles se caractérisent par une taille importante et une paroi épaisse. Nous avons distingué deux catégories d'hyphes médullaires; de petites hyphes à septums uni ou triperforés, ayant 2200nm de diamètre et dont la paroi mesure 250nm, et de grandes hyphes à septums multiperforés, de 5900nm diamètre, avec une paroi de 600nm d'épaisseur.

Les petites hyphes médullaires ont des articles allongés et étroits. Elles sont relativement sinueuses et leur longueur est difficile à évaluer. Le cytoplasme, assez dense, est limité par un plasmalemme sinueux mais ne formant pas de véritables «Plasmazotten». C'est dans ce type d'hyphes que se rencontrent le plus grand nombre de lomasomes. Les corps concentriques y sont abondants et groupés en amas. Le système vacuolaire y est particulier : les vacuoles sont petites, arrondies et contiennent le plus souvent chacune un précipité vacuolaire dense aux électrons, formant une masse subsphérique (fig. 7, pl. IV). Des fusions vacuolaires n'y sont pas rares.

Les grandes hyphes médullaires ont des articles très longs et très larges. Elles sont relativement rectilignes, surtout au niveau des veines de la face inférieure du thalle. Les septums multiperforés doivent contenir plusieurs dizaines de pores (BOISSIERE J.C., 1967); ceux-ci sont entourés par de nombreux corps de Woronin (fig. 8 et 9, pl. IV). Le cytoplasme est moins dense que celui des petites hyphes médullaires. Les ribosomes y sont clairsemés et les corps concentriques ne sont jamais groupés en amas. Le système vacuolaire présente une évolution caractéristique. On distingue d'abord des vacuoles anguleuses avec un précipité en cours de désagrégation, ensuite ces vacuoles fusionnent en même temps que les précipités vacuolaires disparaissent.

Au terme de cette évolution, le centre de chaque article est occupé par une immense vacuole qui plaque le noyau et les éléments figurés du cytoplasme en position pariétale. Enfin, on rencontre souvent des articles où la grande vacuole a disparu; on y retrouve seulement quelques portions de tonoplaste sinueux, dans un cytoplasme encore vivant mais très appauvri.

5) Les hyphes des rhizines

Les rhizines s'insèrent sur la face inférieure du thalle, au niveau des veines, et assurent la fixation du Lichen sur son substrat. Les hyphes qui les composent sont parallèles entre elles et groupées en faisceaux; elles prennent progressivement une direction perpendiculaire au thalle dont elles dérivent. Elles sont

Source : MNHN, Paris

serrées les unes contre les autres; toutefois la couche la plus externe de leur paroi (4) garde son individualité, et ces hyphes sont à peine soudées les unes aux autres par le ciment mucilagino-hémicellulosique; un simple contact s'établit entre elles, (fig. 10, pl. V). Les plus périphériques présentent un aspect «échevelé», les plus centrales sont plus cohérentes.

Le test de THIÉRY fait apparaître la nature polysaccharidique des couches 1 et 4 de leur paroi. Dans l'ensemble celle-ci est plus mince que celle des hyphes corticales et médullaires, (400 nm au lieu de 500nm).

Comme ceux des grandes hyphes médullaires, leurs septums sont multiperforés (BOISSIERE J.C. et M.C., 1968). Leurs pores facilitent la circulation de l'eau et des substances nutritives d'une cellule à l'autre; l'existence de pores multiples indique peut-être que les rhizines favorisent une absorption d'eau et de sels minéraux depuis le substrat vers le thalle. Un fait significatif à ce propos: les veines de la face inférieure du thalle qui sont en continuité avec les rhizines possèdent les hyphes médullaires les plus larges.

L'examen de photographies électroniques montre que les cellules de ces hyphes sont bien différenciées, avec une ou plusieurs vacuoles occupant la plus grande partie de leur contenu. Le plasmalemme y est légèrement sinueux et des lomasomes sont visibles. Des corps de Woronin sont présents au voisinage des pores septaux. Les noyaux sont assez nombreux par article et nous avons fréquemment observé des mitochondries particulièrement allongées (fig. 12, pl. V). Dans le cytoplasme se distingue parfois un ensemble complexe de fibrilles que contraste l'acétate d'uranyle-citrate de plomb. Ces microfibrilles sont disposées suivant l'axe d'allongement des rhizines (fig. 11, pl. V). Ces observations faites sur les hyphes composant les rhizines sont à rapprocher de celles faites sur les rhizomorphes de l'Ascomycète *Sphaerostilbe repens* (DEIXHEIMER J. et BOTTON B., 1975). En effet, ces auteurs remarquent l'existence, dans la zone différenciée, de microtubules et de mitochondries allongées, nombreuses surtout dans la zone génératrice. Ce qui est remarquable c'est que les rhizines du *Peltigera canina* présentent des analogies ultrastructurales avec un organe appartenant à un Ascomycète et ayant probablement une fonction de conduction.

III. LES CONSTITUANTS CLASSIQUES DES HYPHES

1. Paroi, septums.

Ces éléments paraplasmiques ont été étudiés en microscopie optique et les constituants chimiques que l'on peut en extraire ont été analysés (BOISSIERE J.C., 1967, BOISSIERE J.C. et M.C. 1968, M.C. et J.C. 1968, 1970, BOISSIERE M.C. 1967). Ces résultats seront repris dans un mémoire (BOISSIERE J.C.) consacré essentiellement à la structure et à la composition chimique de la paroi des hyphes végétatives, de leur septum, de celle des asques. Nous nous limiterons aux observations faites en microscopie électronique au cours de l'étude de notre matériel.

Source : MNHN, Paris

a) La paroi des hyphes du *Peltigera canina* montre quatre couches qui sont de l'intérieur vers l'extérieur, les couches 1, 2, 3 et 4. La plus externe (4) est continue au niveau des septums, elle est nettement démimitée sur les hyphes des rhizines (fig. 14, pl. VI) et de la médulle (fig. 13, pl. VI) mais elle perd de son individualité sur celles du cortex, où elle joue le rôle de ciment (Mu, fig. 3, pl. II). Le test de THIÉRY est très positif au niveau de cette couche qui apparaît compacte et sombre dans sa partie la plus interne et plus lâche lorsqu'elle passe insensiblement à un ciment.

- La couche la plus interne (1) est un mince liseré qui tapisse la paroi des articles. Elle est probablement de même nature que la couche externe (4), le test des polysaccharides y est très positif et les photographies électroniques montrent qu'elle est mince, granuleuse et de texture lâche (fig. 15, pl. VI). Cette couche n'a peut-être pas d'individualité propre, elle pourrait fournir le matériel intégré ensuite dans les couches 2, 3 de la paroi. D'autre part la couche 1 est d'épaisseur variable et elle est en contact plus ou moins étroit avec le plasmalemme. La texture lâche de cette couche suggère d'autre part qu'elle pourrait provenir de matériel apposé par les lomasomes (fig. 15, et 16, pl. VI).

- La zone moyenne de la paroi, composée des couches 2 et 3 a un aspect assez compact; les photographies électroniques permettent, après un léger décapage à la pepsine, de donner une individualité à ces couches (fig. 15 et 16, pl. VI). Les fibres polysaccharidiques des couches 2 et 3 ont probablement des orientations différentes entre elles. Ce caractère n'est pas mis en évidence sur toutes les coupes, c'est donc avec la plus grande prudence qu'il faut interpréter les directions en apparence transversale ou longitudinale qu'elles peuvent présenter. L'épaisseur des couches de la paroi a été évaluée sur des hyphes médullaires, la couche externe 4 gardant son individualité. Nous avons trouvé les résultats suivants: pour la couche (4) 180 nm, les couches (2-3) 228 nm et la couche (1) 89 nm, mais pour une même catégorie d'hyphes, ces épaisseurs sont variables.

b) Le septum.

Au niveau du septum, la couche 4, continue, est légèrement épaissie (fig. 14, pl. VI). La couche 1, amincie, se prolonge peut-être sur les faces du septum. La couche 2 est interrompue : elle se termine en biseau dans la région périphérique. Il semble que la couche 3, au niveau du septum, se dédouble. Une formation très réactive au test de THIÉRY la partage pour constituer un manchon. Entre les couches 2 et 3, des pièces réactives également au test de THIÉRY encadrent les extrémités des articles. Les pièces de 2 articles successifs s'affrontent plus ou moins ou s'écartent irrégulièrement au niveau du septum en ménageant entre elles un espace faiblement réactif à la technique de THIÉRY. Sur les coupes, l'axe du septum, interrompu par les pores, donne l'impression d'une succession de nodules (fig. 8 et 9, pl. IV). Il est parfois en continuité avec le «triangle» clair formant un anneau périphérique au septum. La figure 3 résume ces observations qui ont été complétées par des résultats obtenus en microscopie optique.

Le septum est percé d'un ou plusieurs pores, mettant en communication

Source : MNHN, Paris

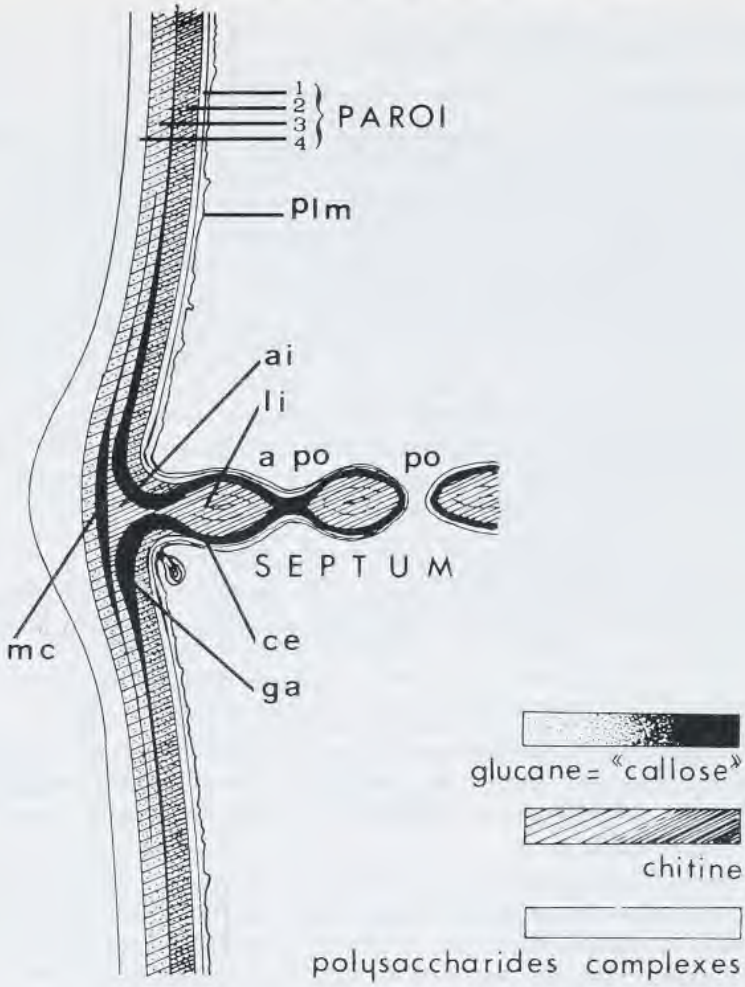


Fig. 3. — **Paroi et septum de Peltigera canina.** Schéma d'interprétation d'après des observations en microscopie électronique complétées par des résultats de microscopie optique et selon la terminologie de M. CHADEFAUD; ai, anneau interloculaire chitineux; a po, amincissement proche d'un pore; ce, cupule épiloculaire callosique; ga, gouttière annulaire callosique; li, lame interloculaire chitineuse; mc, manchon callosique = mur annulaire; plm, plasmalemme; po, pore du septum.

le cytoplasme des deux articles voisins. Il y en a plusieurs dans les septums multiperforés des hyphes médullaires (fig. 8 et 9, pl. IV). Des septums uniperforés se rencontrent plus fréquemment dans les hyphes de la couche gonidiale et du cortex. A proximité des pores septaux se rencontrent des organites sphériques qui portent le nom de corps de Woronin, certains d'entre eux obturent les pores. Nous préciserons ultérieurement leur nature chimique, dans le chapitre réservé aux constituants protoplasmiques.

Source : MNHN, Paris

2. Les Constituants protoplasmiques

a) Le plasmalemme

Cette membrane a une structure tripartite (deux feuillets sombres encadrent un feuillet clair) de 11 nm d'épaisseur. La double coloration à l'acétate d'uranyle-citrate de plomb met bien en évidence cette organisation, elle en souligne le caractère tripartite en faisant apparaître le feuillet externe plus sombre (fig. 17, pl. VII). Ce revêtement est habituellement mis en évidence par le test des polysaccharides, l'acide phosphotungstique à bas pH et les sels de métaux lourds (ROLAND et VIAN, 1971). Il était donc intéressant d'examiner la réactivité particulière du plasmalemme vis-à-vis de ces tests. Cette membrane réagit positivement au test des polysaccharides (fig. 15, pl. VI) et à l'APT à bas pH (fig. 18, pl. VII) indiquant ainsi qu'elle possède un revêtement de nature polysaccharidique et glycoprotéique. Avec le test de THIÉRY, le plasmalemme paraît plus épais (14 nm) que lorsqu'il est contrasté à l'acétate d'uranyle-citrate de plomb et à l'APT (11 nm).

Cette différence peut révéler un revêtement polysaccharidique. Il est en effet possible que le plomb ne contraste pas tous les polysaccharides que révèle le test de THIÉRY, beaucoup plus spécifique. D'autre part, il est intéressant de rechercher s'il existe parmi ces polysaccharides des groupements acidiques libres (COO). Le complexe osmium-rouge de ruthénium visualise ces groupes, qu'ils soient d'ailleurs polysaccharidiques ou non (BLANQUET, 1976).

Nous avons remarqué que le plasmalemme du mycobionte et celui du phycobionte étaient contrastés par ce complexe ce qui prouverait qu'une partie des polysaccharides présents sur le plasmalemme aurait des groupements carboxyles (acides uroniques?).

La recherche de l'activité phosphatasique neutre s'est montrée positive au niveau du plasmalemme du phycobionte, surtout lorsque celui-ci est au voisinage d'une hyphe. Le plasmalemme du mycobionte est également marqué mais le dépôt de phosphate de plomb est plus régulier (BOISSIERE M.C., 1973).

b) Les déformations du plasmalemme

Le plasmalemme, plus ou moins sinueux, subit des déformations d'ampleur et de forme variables, qui conduisent à l'élaboration de trois structures auxquelles des noms différents ont été attribués. Il s'agit des lomasomes, des «Plasmazotten» ou replis profonds du plasmalemme, signalés par PEVELING (1969) dans les hyphes du *Peltigera canina* et des «Mesosomen ähnliche Strukturen», structures rappelant les mésosomes bactériens, également signalés par cet auteur (1972), dans le mycobionte du *Lichina pygmaea*. Les lomasomes sont des différenciations largement répandues dans les hyphes des Champignons libres et lichénisés. Les autres formations de nature plasmalemmique, bien que non exclusives des Lichens, sont interprétées ici comme des particularités dues à la vie symbiontique et seront étudiées plus loin en tant que telles.

Le lomasome est une dépression qui peut contenir des tubules, des lamelles ou des vésicules et qui se situe à la limite du protoplasme et de la paroi. Il est

Source : MNHN, Paris

entouré d'une membrane plasmique, qui est en continuité avec le plasmalemme. A l'origine du lomasome on rencontre une vésicule cytoplasmique contenant des profils membranaires. L'enveloppe de cette vésicule en se raccordant avec le plasmalemme engendre le lomasome. Ce qui est remarquable c'est que les profils membranaires des vésicules aussi bien que ceux des lomasomes réagissent positivement à l'APT à bas pH, ce qui indique que des protéines à groupements électropositifs entrent dans leur constitution, (fig. 18, pl. VII). Ces membranes se chargent de matériel polysaccharidique comme en témoigne le test de THIÉRY (fig. 15, pl. VI). La membrane limitante des vésicules et le plasmalemme offrent la même réactivité à l'APT et au test de THIÉRY avant et après la fusion ce qui semble indiquer une similitude de composition de ces deux membranes (fig. 15, pl. VI; fig. 18, pl. VII).

Les lomasomes ne sont pas des différenciations rares, ils se rencontrent dans les différentes catégories d'hyphes, mais avec une plus grande fréquence dans les petites hyphes de la médulle (fig. 7, pl. IV) et dans les hyphes de la couche gonidiale (fig. 18, pl. VII). Ils sont souvent localisés près des septums, et dans un même article on peut les observer à différents stades de leur formation (fig. 9, pl. IV). Si du point de vue physiologique nous avons distingué nettement les lomasomes des mésosomes, la distinction n'est pas aussi aisée au point de vue morphologique, lorsque le mésosome est en début de formation.

c) Le réticulum endoplasmique

Des profils de ce reticulum ne sont pas rares dans le cytoplasme des hyphes lichénisées. On les rencontre fréquemment près de la membrane nucléaire, le long du plasmalemme et près des septums (fig. 19, pl. VII). Des ribosomes y sont parfois associés, toutefois le reticulum est le plus souvent lisse. Mais le reticulum endoplasmique peut aussi prendre une morphologie très différente. Ainsi dans les hyphes jeunes au cytoplasme dense, peu vacuolisé, riche en mitochondries, corps concentriques et ribosomes, on rencontre un réseau compliqué de citernes et de saccules aplatis, renflés çà et là. Des ribosomes sont associés à ces membranes. Ce type particulier de reticulum endoplasmique s'observe surtout dans les hyphes de la couche gonidiale, dont le plasmalemme présente des microvillosités profondes et abondantes (fig. 31, pl. XI).

En général, le reticulum endoplasmique ne présente pas la même réactivité que le plasmalemme et certaines des vésicules du cytoplasme, au test cytochimique de THIÉRY et à l'APT. Cependant dans des régions localisées du cytoplasme on peut observer des profils courts de reticulum endoplasmique qui réagissent positivement au test de THIÉRY, ils peuvent être mêlés à des vésicules. L'ensemble est ensuite encerclé par une cytomembrane ayant la même réactivité. C'est probablement là qu'il faut rechercher l'origine des vésicules qui donnent naissance aux lomasomes.

d) Les ribosomes

Le hyaloplasme des hyphes contient des granules osmiophiles ayant de 10 à 20 nm de diamètre : ce sont les ribosomes. Ils sont protéiques, riches en ARN et responsables de la basophilie du cytoplasme. Les fixations les plus propices

Source : MNHN, Paris

à leur mise en évidence sont aldéhydiques. Les ribosomes se montrent particulièrement abondants dans le cytoplasme des hyphes en croissance et dans celui des hyphes de la couche gonidiale (fig. 20, pl. VIII). Les hyphes différenciées et fortement vacuolisées (cortex et médulle) ont un hyaloplasme beaucoup plus pauvre. Les ribosomes sont impliqués dans les synthèses protéiques, protéines enzymatiques ou protéines de structure, il n'est donc pas surprenant de les rencontrer dans des hyphes à métabolisme actif, qui contiennent en outre des mitochondries pourvoyeuses d'énergie et un système lysosomal. Pour qu'il y ait synthèse protéique, les ribosomes doivent être associés en polyribosomes, permettant la lecture du code transcrit sur un ARN messager (fig. 20, pl. VIII). Les ribosomes sont relativement faciles à contraster, mais le fin filament d'ARN messager qui les relie n'est pas discernable.

e) Les mitochondries

Ces organites sont présents dans toutes les catégories d'hyphes du thalle. Elles sont toutefois inégalement réparties. Lorsqu'on examine un thalle différencié, ce sont les hyphes de la couche gonidiale qui en contiennent le plus. Si on observe la marge d'un lobe de thalle en croissance, ce sont les hyphes de la zone de multiplication (Z2 de la figure 1, pl. I) qui en sont le plus fortement pourvues. Au sein du cytoplasme, elles n'ont pas de localisation privilégiée, sauf peut-être dans les hyphes très proches des gonidies, où elles accompagnent le complexe vacuole autophagique-mésosome et phytolysosome. Leur forme et leur taille sont très variables, elles sont tantôt ovoïdes (fig. 20, pl. VIII), tantôt vermiformes (fig. 12, pl. V).

Toutefois, leur forme subit certainement une évolution. Les mitochondries de la zone de croissance du thalle sont de petite taille, et pourvues de crêtes internes relativement courtes, ayant une orientation quelconque à l'intérieur de la matrice. Les figures d'étranglement suggérant une division ne sont pas rares. Celles de la couche gonidiale sont un peu plus allongées et leurs crêtes sont plus nombreuses et plus longues (fig. 20, pl. VIII). Enfin les hyphes différenciées du cortex, de la médulle ou des rhizines possèdent des mitochondries longues et étroites dont les crêtes s'allongent considérablement et prennent souvent une direction parallèle à l'axe d'allongement.

f) Le noyau

Les noyaux sont présents dans toutes les hyphes et chaque article en contient généralement plusieurs. La plupart des photographies électroniques en présentent des coupes au contour presque circulaire ou ovale. L'enveloppe nucléaire, constituée par le double feuillet habituel est percée de pores peu nombreux.

Le nucléole fortement contrasté par le citrate de plomb, est granuleux et hétérogène. La chromatine, bien contrastée par l'acétate d'uranyle, offre deux aspects : d'une part celui de fines fibres de 6 nm de diamètre, dispersées dans le nucléoplasme, et d'autre part celui d'amas importants de ces mêmes fibres qui constituent la chromatine condensée sous forme de chromocentres (fig. 19, pl. VII). Un certain nombre de ceux-ci sont toujours plaqués contre l'enveloppe nucléaire.

Source : MNHN, Paris

Dans les hyphes différenciées, principalement celles de la médulle, il est possible de rencontrer des noyaux aux contours lobés. Des replis de l'enveloppe nucléaire limitent des diverticules à base parfois étroite. S'agit-il d'un processus de dégénérescence ou bien d'un bourgeonnement?

3. Les enclaves du cytoplasme

a) Les corps de Woronin

Il est fréquent d'observer de petits globules denses aux électrons au voisinage des pores septaux ou à leur niveau; ce sont les corps de Woronin (fig. 17, pl. VII). Ils ont une forme circulaire ou ovoïde avec un diamètre moyen de 140 nm. Les rares coupes sériées ayant une orientation parallèle au septum nous ont permis d'évaluer le nombre de ces corps proches du pore septal; il atteint cinq ou six unités de chaque côté du pore. Les grosses hyphes médullaires, dans lesquelles on peut compter jusqu'à vingt cinq pores, peuvent de ce fait contenir de deux cent cinquante à trois cents corps de Woronin. Ils rappellent par leur affinité osmiophile les globules lipidiques, cependant ils sont toujours plus opaques aux électrons que ces derniers et de taille plus petite. En outre, un fort grossissement nous a permis de mieux les distinguer de ces globules.

En effet, ils apparaissent limités par une membrane unitaire et leur structure semble résulter de l'arrangement interne de particules (fig. 21, pl. VIII). Ils sont en partie de nature protéique, comme en témoigne leur digestion par les enzymes protéolytiques: une coupe traitée par la pepsine (fig. 22, pl. VIII) révèle un vide à leur emplacement; le résultat est identique après action de la pronase. Ils résistent à une extraction à l'acétone contrairement aux globules lipidiques, dont la nature est différente. L'examen de nombreuses photos électroniques fait apparaître que les corps de Woronin peuvent pénétrer dans les pores septaux et les obturer, surtout lorsqu'un des articles de l'hyphe a subi une altération. Aucune observation précise ne nous a permis de reconnaître l'origine des corps de Woronin.

b) Les globules lipidiques

Les globules lipidiques sont abondants dans les hyphes proches des gonidies, surtout lorsque les contacts entre les deux symbiontes sont étroits. Ils sont également abondants dans les hyphes intramycéliennes et dans les articles contigus à des cellules altérées, dégénérées ou mortes. Leur diamètre de 200 à 450 nm, est nettement plus important que celui des corps de Woronin, et d'autre part beaucoup plus variable. Ils sont dépourvus de membrane limitante et leur contenu est clair et homogène (fig. 19, pl. VII et fig. 39, pl. XIII); ils résistent à l'action des enzymes protéolytiques (pepsine, pronase) mais disparaissent par extraction à l'acétone. L'ensemble de ces caractères permet de les distinguer aisément des corps de Woronin, avec lesquels ils sont souvent mêlés, car on les rencontre le plus souvent au voisinage des septums. Leur abondance particulière dans les articles contigus à des cellules altérées, dans les hyphes intramycéliennes ou proches des gonidies peut suggérer une accumulation de réserve sous forme de lipides rendue possible par l'utilisation des substances prélevées

Source : MNHN, Paris

dans les cellules altérées ou dans les gonidies.

c) Présence éventuelle de phytolysosomes primaires.

En examinant les rapports cytologiques entre les symbiontes du *Lichina pygmaea* et du *L. confinis*, nous avons mis en évidence des vacuoles qui coiffent, puis semblent digérer, des figures ressemblant aux mésosomes. Ces vacuoles ont été assimilées à des vacuoles autophagiques ou lysosomes secondaires. Elles sont souvent entourées d'inclusions sphériques, moyennement opaques aux électrons, dont elles reçoivent le contenu. Ces inclusions ont alors été interprétées comme des phytolysosomes. Des vacuoles autophagiques, dont le comportement est le même, étant présentes chez le *Peltigera canina*, nous avons recherché chez celui-ci des phytolysosomes. Nous y avons effectivement trouvé des inclusions au contenu granuleux, entourées d'une membrane unitaire (LI, fig. 38, pl. XII). Il nous semble toutefois qu'elles sont trop rares pour qu'on puisse leur attribuer un rôle fondamental. Nous les nommons provisoirement «lysosomes primaires».

d) L'appareil vacuolaire

Les différentes catégories de vacuoles

Les thalles différenciés (à 1cm de la marge) ont un appareil vacuolaire très développé mais ne constituent pas un matériel très favorable pour leur étude. Par contre, des coupes verticales effectuées dans la marge d'un lobe (fig. 1, pl. I) présentent la plus grande variété de types vacuolaires possibles, ce qui permet d'en suivre l'évolution. Les hyphes de la zone de multiplication, ainsi que celles du jeune cortex et de la jeune médulle, ont des vacuoles petites, arrondies et occupées par un important précipité vacuolaire, de forme également arrondie (fig. 7, pl. IV). Elles sont isolées au sein du cytoplasme; nous les appellerons vacuoles de type V-I. En s'éloignant de la marge du thalle, les vacuoles rencontrées ont un diamètre supérieur, des formes variées et elles occupent un volume important dans chaque cellule. Arrondies ou polygonales (sur les coupes), elles sont souvent contiguës; les précipités vacuolaires y sont encore présents, mais moins volumineux et en cours de dispersion. Nous les appellerons vacuoles de type V-II. Une évolution parallèle semble se produire à la fois dans le cortex et la médulle (fig. 2, pl. I et fig. 25, pl. IX pour le cortex; fig. 9, pl. IV pour la médulle). Enfin, dans les parties bien différenciées du cortex et de la médulle, et dans les rhizines, les vacuoles sont de grande taille et elles repoussent le cytoplasme contre la paroi cellulaire. Toutefois, des travées cytoplasmiques plus ou moins fines les séparent encore (fig. 4, pl. II et fig. 10, pl. V). Nous les appellerons vacuoles de type V-III. Ainsi du type V-I au type V-III la morphologie évolue d'une manière continue, les formes intermédiaires sont fréquentes. D'autre part, les hyphes de la couche gonidiale sont pourvues d'un système vacuolaire moins développé. On y rencontre, à côté de vacuoles ressemblant à celles des types précédemment cités, mais dont la taille n'est jamais importante, des vacuoles ayant un autre caractère. Celles-ci, que nous appellerons vacuoles du type L S, sont ovoïdes ou polygonales, elles présentent souvent des phénomènes de fusion avec d'autres vacuoles ou avec des inclusions voisines.

Source : MNHN, Paris

L'essentiel de leur originalité c'est d'encercler puis de capter des portions de cytoplasme, en particulier les figures mésosomiennes, (figures de la planche XII). Grâce à un travail effectué sur le *Lichina pygmaea*, où le phénomène est beaucoup plus développé, il a été possible, comme nous le verrons plus loin, d'interpréter ces vacuoles L S comme des lysosomes secondaires ou vacuoles autophagiques. De plus, fréquemment chez le *Lichina pygmaea*, plus rarement chez le *Peltigera canina*, ces vacuoles L S reçoivent l'apport de phytolysosomes primaires (LI) (fig. 38, pl. XII).

Réactivité des vacuoles aux tests cytochimiques.

Aucune des vacuoles citées ne réagit au test des polysaccharides (technique de THIÉRY). Les petites vacuoles arrondies à précipité vacuolaire important (type V-I) réagissent au test de mise en évidence des peroxydases par incubation dans un milieu à la diaminobenzidine (DAB) (fig. 27 et 28, pl. X). Cette réaction caractérise le précipité vacuolaire et souligne le tonoplaste. Les vacuoles arrondies du jeune cortex ou de la jeune médulle (type V-II) réagissent elles aussi positivement à ce test (fig. 26, pl. X). Le précipité observé est d'autant plus diffus que la vacuole est plus grande. Lorsque la forme des vacuoles se rapproche du type V-III, la réactivité diminue puis disparaît complètement. Aucune des vacuoles des types I, II ou III ne réagit positivement au test cytochimique de mise en évidence des phosphatases acides (incubation dans le milieu de Gomori). Par contre, les vacuoles autophagiques ou phytolysosomes secondaires (L S), réagissent nettement à ce test (fig. 29, pl. X et fig. 36 et 37, pl. XII) attestant la présence d'une phosphatase. Les coupes témoins (fig. 30, pl. X) ne présentent aucune réactivité. Si le seul examen de la morphologie pouvait encore laisser subsister des doutes sur les relations qui existent entre les différentes vacuoles observées, les résultats de ces tests viennent confirmer notre première hypothèses: il existe deux lignées de vacuoles.

Une première lignée prend naissance dans la zone de multiplication de la marge du thalle. Ces vacuoles, petites, sphériques, nombreuses, au précipité vacuolaire important par rapport à leur volume (type V-I) sont DAB positives et Gomori négatives.

Les types V-II puis V-III, qui en dérivent, conservent ces caractères, la réactivité au DAB s'estompe progressivement, puis disparaît dans le type V-III.

Une deuxième lignée prend son origine également dans la marge du thalle, puis poursuit une évolution propre uniquement dans la couche gonidiale. Ces vacuoles sont toutes DAB négatives et Gomori positives. Nous leur attribuons un rôle lytique, ce sont les vacuoles de type L S.

e) Le glycogène

Dans les hyphes du cortex ou de la couche gonidiale, il est possible de mettre en évidence du glycogène. La technique la plus appropriée pour l'observer est la fixation au permanganate de potassium, ou bien une fixation aldéhydique suivie de la technique de THIÉRY (fig. 24, pl. IX; fig. 35 et 38; pl. XII).

Le glycogène se présente sous forme de particules bien contrastées par la technique de THIÉRY, de 16 nm de diamètre environ. D'après leur taille et leur

Source : MNHN, Paris

réactivité, il est facile d'identifier ces éléments comme étant des particules β selon la définition qu'en donne DROCHMANS (1962) pour du glycogène de foie de rat et d'après les observations de SCHRANTZ (1968) dans les asques du *Galactinia plebeia*. Les particules β sont associées en amas irréguliers de 80nm au moins; ces amas représentent des ébauches de rosettes ou particules α (fig. 24, pl. IX, flèche). Nous n'avons jamais observé chez le *Peltigera canina*, ni chez aucun autre mycobionte de Lichen à gonidies cyanophytes, des particules α typiques. Le glycogène peut être très abondant dans les hyphes du cortex et de la couche gonidiale, particulièrement dans le matériel fixé immédiatement après la récolte, celle-ci étant effectuée dans la nature, après une période de temps humide au tout début du printemps. Il semble que les hyphes contiennent moins de glycogène lorsque le matériel est maintenu en boîte de Pétri sur papier filtre humide à la lumière du laboratoire, avant la fixation. Cependant on trouve toujours un peu de glycogène dans les hyphes de la couche gonidiale, qui contiennent des mésosomes et des vacuoles autophagiques (fig. 35 et 38, pl. XII).

L'origine du glucose, qui représente le métabolite entrant dans la synthèse du glycogène, sera abordée dans un chapitre ultérieur, à propos du rôle attribué à la figure mésosomienne et au système lysosomal qui l'accompagne. Le glucose est probablement polymérisé en glycogène au niveau du reticulum endoplasmique; c'est ce que révèle particulièrement les fixations au permanganate de potassium.

IV. LES PARTICULARITÉS DUES A LA VIE SYMBIOTIQUE

1. Les invaginations du plasmalemme.

Les hyphes qui se situent dans la zone gonidiale ont une situation privilégiée; en effet, elles sont voisines des gonidies cyanophytes, et c'est à ce niveau que se réalisent les échanges entre les deux partenaires. Le plasmalemme des hyphes de cette couche présente fréquemment des invaginations ayant sur les coupes tangentielles, l'aspect de digitations tubuliformes, sinueuses, centripètes (fig. 31, pl. XI). Ces microvillosités ne sont pas l'apanage des hyphes gonidiales mais se rencontrent aussi sur les petites hyphes médullaires les plus proches de la couche gonidiale.

Les villosités n'ont pas toujours la même amplitude mais il est de règle générale que le plasmalemme soit sinueux et ceci sur bien d'autres cellules que celles des Lichens. Outre l'étude approfondie faite sur le *Peltigera canina* nous avons observé, à titre de comparaison, le mycobionte d'autres Lichens à Cyanophytes, des genres *Lichina*, *Collema*, *Lobaria* et *Leptogium* : le plasmalemme des hyphes gonidiales s'est toujours révélé sinueux (fig. 32, pl. XI). Le mycobionte de Lichens à gonidies Chlorophycées a été examiné et il nous a paru que le plasmalemme y présentait des replis beaucoup plus profonds, notamment chez le *Parmelia fuliginosa*, dont le phycobionte est un *Trebouxia*. En effet le plasmalemme du mycobionte des isidies dessine des digitations très étroites et allongées, à extrémités aiguës dirigées vers le cytoplasme (fig. 33, pl. XI).

Source : MNHN, Paris

Dans certaines coupes, ces digitations n'apparaissent pas en continuité avec le plasmalemme; elles en sont en apparence détachées. L'*Umbilicaria pustulata* possède un plasmalemme très contourné. Les microvillosités présentent la même réactivité au test de THIÉRY que le plasmalemme et cela confirme la similitude de leur constitution.

2. Structure rappelant les mésosomes bactériens.

Le plasmalemme des hyphes de la couche gonidiale du *Peltigera* présente localement des replis membranaires très serrés formant des empilements parfois assez considérables (fig. 34, pl. XII). La réactivité de ces membranes au test des polysaccharides est telle qu'à un faible grossissement du microscope électronique, elles peuvent apparaître comme une masse compacte. Cette structure n'est pas statique; nous avons pu en suivre l'ontogénie. Tout d'abord le plasmalemme du mycobionte, très positif au test de THIÉRY, paraît se dédoubler en plusieurs lamelles superposées, véritable foisonnement de la structure plasmalemmique. Les lamelles se rassemblent et en même temps s'éloignent de la paroi, donnant déjà l'image d'un «mésosome», puis un étranglement les sépare du plasmalemme auquel elles ne sont plus rattachées que par un fin pédicule. La figure mésosomienne ainsi formée est très vite au trois quart encerclée par une vacuole L S, qui est claire après utilisation du test de THIÉRY, et donc dépourvue de polysaccharides, fig. 4. Dès ce stade, de petites enclaves LI, de 150 à 330 nm, s'associent, soit directement à la figure mésosomienne, soit à la vacuole L S qui l'entoure. Dans le cytoplasme d'autres vacuoles L I sont présentes et peuvent fusionner avec des vacuoles centrales. Ces vacuoles L I se colorent au plomb, mais restent pratiquement insensibles au test des polysaccharides (dans une préparation témoin, leur aspect reste le même); elles sont donc probablement riches en lipides. Ensuite, quand la figure mésosomienne se détache du plasmalemme, elle est complètement entourée par une vacuole L S, dans laquelle peut se déverser le contenu de vacuoles L I. Dans le cytoplasme, de nombreuses vacuoles de type L S, dont la nature est identique à celles entourant le «mésosome», sont présentes. Ces vacuoles peuvent fusionner entre elles; il se forme ainsi un système vacuolaire à l'intérieur duquel on peut trouver des lambeaux de «mésosomes». Au voisinage de ce système, le test de THIÉRY met en évidence du glycogène (fig. 35 et 38, pl. XII). Les vacuoles L S présentent une activité phosphatasique acide, nous l'avons vérifié en utilisant l'incubation dans le milieu de Gomori, pour le *Peltigera canina*. Cette activité se manifeste dans les vacuoles de type L S qui coiffent le «mésosome» et deviennent des vacuoles autophagiques, et aussi celles du cytoplasme qui parfois contiennent des débris de mésosomes (fig. 36 et 37, pl. XII). Des préparations témoins (absence du substrat ou présence d'un inhibiteur) ne montrent aucune activité (fig. 30, pl. X).

3. Les Corps concentriques

Dans le cytoplasme des hyphes lichénisées on rencontre fréquemment des organites insolites, qui furent mentionnés pour la première fois, sous le terme

Source : MNHN, Paris

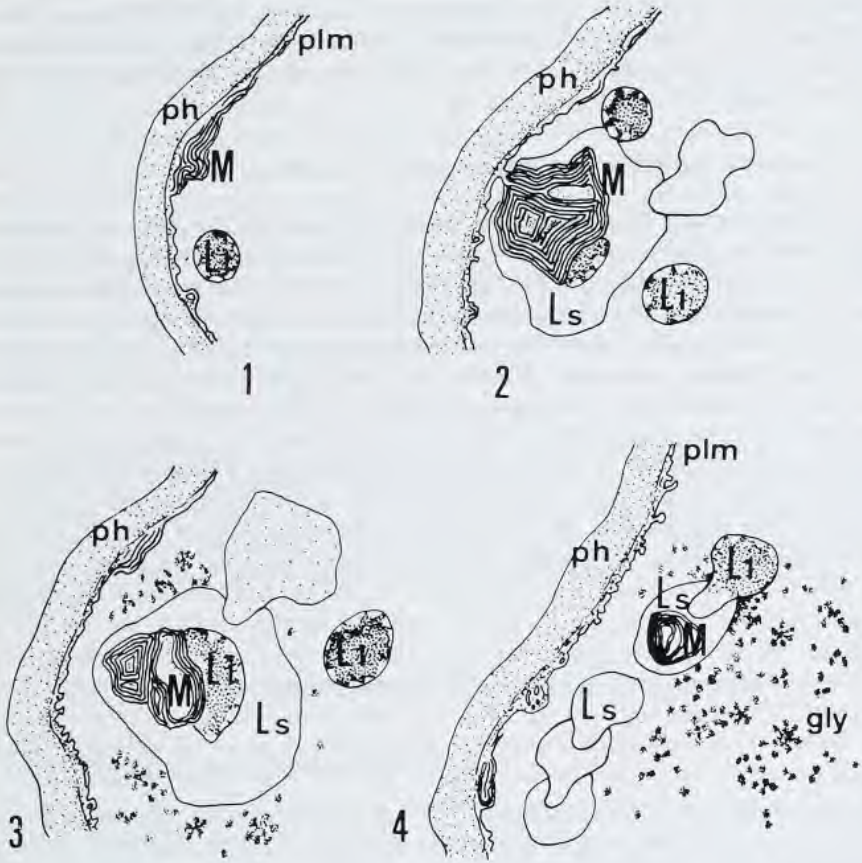


Fig. 4. – Ontogénie de la figure mésosomienne et sa digestion par un système lysosomal chez divers Lichens à Cyanophyte (BOISSIERE M.C., 1977). Gly, glycogène; LI, phytolysosome primaire (cf. microbody?); LS, lysosome secondaire ou vacuole autophagique; M, figure mésosomienne; ph, paroi de l'hyphe; plm, plasmalemme.

d'«ellipsoidal bodies» par BROWN et WILSON (1968) chez le *Physcia aipolia*. C'est à PEVELING (1969) que l'on doit le terme de «corps concentriques» pour désigner ces structures, qu'elle met en évidence chez plusieurs espèces de *Peltigera*. Cette appellation, en rapport avec la morphologie, nous paraît mieux convenir pour désigner ces formations (fig. 39, pl. XIII).

Chez tous les Lichens observés, que leurs gonidies soient des Cyanophytes ou des Chlorophycées, nous avons trouvé des corps concentriques dans le mycobionte. A la liste établie par GRIFFITHS et GREENWOOD (1972) récapitulant les Lichens chez lesquels il a été observé des corps concentriques, il convient

Source : MNHN, Paris

d'ajouter les espèces suivantes : *Lichina pygmaea, Leptogium palmatum, Leptogium lichenoides, Collema tenax, Collema crispum, Collema ligerinum, Lobaria scrobiculata, Ephebe lanata, Placynthium nigrum, Peltigera erumpens, Peccania synaliza, Parmelia olivetorum, Parmelia fuliginosa, Umbilicaria pustulata.*

a) **Localisation et nombre.**

Les corps concentriques ont été observés dans toutes les catégories d'hyphes du thalle végétatif. Ils sont, soit disséminés, soit parfois groupés près du noyau. Nous avons tour à tour examiné les hyphes de la marge du thalle, où se trouve la zone de multiplication (Z2), et les hyphes éloignées de Z2, dont la différenciation était réalisée.

Dans la zone de multiplication, les hyphes contiennent un très grand nombre de corps concentriques. Ceux-ci sont groupés et constituent de véritables plages; le support ou la matrice de ces groupes apparaît clair. Le nombre des corps concentriques par groupe varie sur les coupes, de trois ou quatre à une vingtaine (fig. 7, pl. IV, fig. 26, pl. X, fig. 40, pl. XIV). Il y en a quelquefois davantage: nous en avons compté jusqu'à quatre vingt dix huit dans un seul groupe. Des études statistiques portant sur des coupes sériées espacées les unes des autres par un intervalle supérieur au diamètre de l'organite, permettraient d'en évaluer le nombre d'une manière beaucoup plus rigoureuse (PENEL et SIMON, 1976). Toutefois, il ne nous semble pas exagéré d'affirmer que les groupes contiennent de quelques dizaines à plusieurs centaines de corps concentriques dans les hyphes de cette zone privilégiée.

Toutes les hyphes contiguës à la zone Z2 sont largement pourvues de corps concentriques, mais à mesure qu'on s'en éloigne pour atteindre les régions différenciées qui en dérivent, le nombre de ces éléments s'amenuise. Ils sont alors dispersés dans le cytoplasme: la fréquence des groupes de corps concentriques diminue, ainsi que le nombre de ceux-ci dans chaque groupe. Il semble que dans le matériel mis en place à partir de la zone de multiplication, il y ait une prolifération de ces structures dans chaque hyphe, puis au fur et à mesure que s'effectue la différenciation, ces éléments sont répartis dans les différentes catégories d'hyphes et leur nombre décroît du fait même de cette répartition. Les rhizines et les grosses hyphes de la médulle sont celles qui en contiennent le moins; le cortex, la couche gonidiale et le tomentum superficiel en contiennent nettement plus.

b) **Structure**

La structure des corps concentriques est riche en membranes du type membranes plasmiques. Elles sont amalgamées par des dépôts plus ou moins opaques aux électrons et disposés en ordre concentrique. Ces membranes, surtout les plus périphériques, qui se perdent dans le cytoplasme, sont d'une grande fragilité vis-à-vis du fixateur, et assez peu colorables. Cette difficulté explique les nombreuses tentatives que nous avons faites pour obtenir des photographies électroniques lisibles. La fixation au glutaraldéhyde paraformaldéhyde est celle qui permet de donner la description la plus précise de leur structure. Chacun des corps concentriques affecte le plus souvent une forme sphérique, mais

Source : MNHN, Paris

il peut parfois apparaître légèrement ovoïde. Son diamètre moyen est de 249 nm, (fig. 41, pl. XIV). Il se compose d'une partie centrale claire (1), importante (122 nm de diamètre) que nous appelons le «coeur»; celui-ci est enveloppé par une succession de couches concentriques. A partir de cette zone centrale, on distingue d'abord un très mince liseré (2), dont l'épaisseur, difficile à évaluer, est d'environ 6,5 nm. Il paraît correspondre au départ de membranes accolées (fig. 41, pl. XIV et fig. 43, pl. XV, flèches simples) qui traversent toutes les formations suivantes et donnent à l'ensemble de l'organite, un aspect rayonnant. Après une limite nette et très opaque aux électrons, on rencontre une couche (3) de 27 nm d'épaisseur, remarquable par son opacité aux électrons. Bien que très contrastée, on observe dans l'épaisseur de cette zone, les structures membranaires rayonnantes qui la traversent. Elles se poursuivent dans la couche 4 (30 nm) qui, étant beaucoup moins dense aux électrons permet de mieux les distinguer (fig. 41, pl. XIV et fig. 43 et 44, pl. XV, flèches pennées).

Tout se passe comme si les couches 3 et 4 avaient la même structure mais avec en plus, dans la couche 3, une substance granuleuse, dense aux électrons, qui amalgame les lamelles entre elles. D'autre part, la couche 4 paraît partagée en deux strates, par la présence d'une ligne sombre très ténue, qui résulte d'une apposition de granulations contrastées sur les lamelles. Un dépôt similaire mais plus dense, donc plus net, limite la couche 4 à laquelle succède une auréole claire ou halo, d'environ 36 nm d'épaisseur. Ce halo est aussi traversé par le système membranaire qui ensuite se perd dans le cytoplasme avoisinant (fig. 44, pl. XV, H).

Lorsque les corps concentriques sont groupés, leurs halos fusionnent entre eux et l'ensemble des organites paraît porté par une matrice claire où le cytoplasme, appauvri, ne contient aucune structure contrastée.

La fixation osmique ne souligne pas nettement le contraste qui existe entre les couches 3 et 4; le système membranaire rayonnant, par contre, se détache mieux et dans le cas de corps concentriques groupés, on observe une profusion de membranes enchevêtrées les unes dans les autres (fig. 46 et 47, pl. XVI). Il est probable que les corps concentriques sont raccordés les uns aux autres, de cette manière.

Il nous semble que les formations rayonnantes qui, partant de la couche 2, traversent l'ensemble du corps concentrique pour ensuite s'estomper dans le cytoplasme, sont composées de membranes accolées, plutôt que de tubules comme nous l'avions d'abord supposé. En effet, dans le cas de tubules, les coupes tangentielles, passant par les couches 3, 4 ou le halo, devraient donner des images circulaires. Or, en fait, les coupes tangentielles à ces niveaux (fig. 42, pl. XIV et fig. 44 et 45, pl. XV) montrent des assemblages de membranes tripartites (feuillet clair entre deux feuillets sombres) serrées au centre de la coupe et divergentes à la périphérie. Suivant les coupes tangentielles observées, les lamelles sont imbriquées et resserrées suivant deux ou trois directions différentes, (tg, flèches triangulaires).

L'étude structurale des corps concentriques a été établie surtout d'après des coupes transversales. On reconnaît celles-ci à ce que les limites entre les

Source : MNHN, Paris

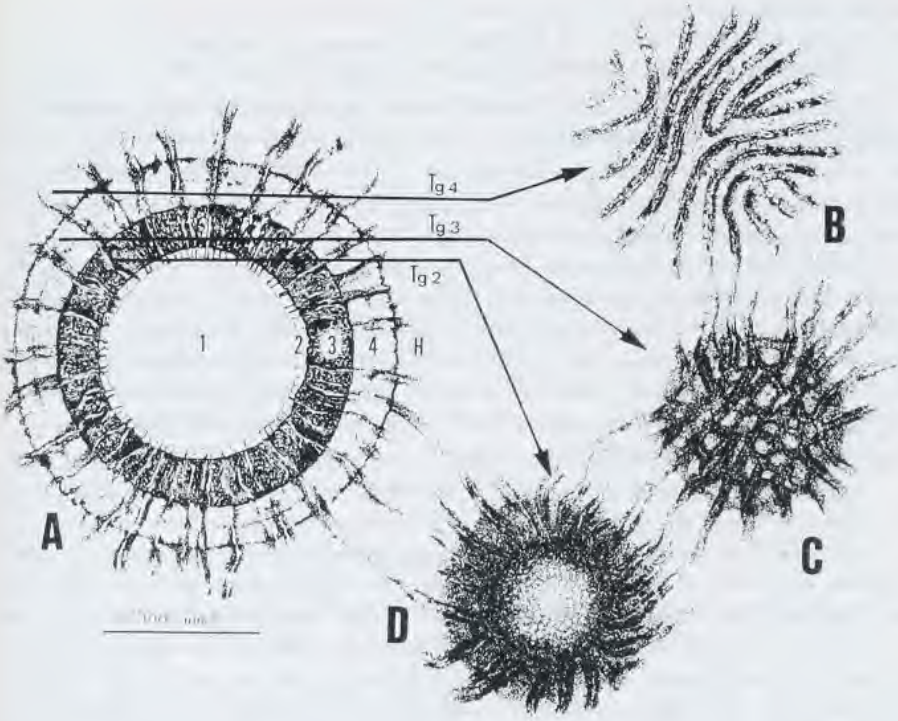


Fig. 5. — **Structure d'un corps concentrique.** En A, la coupe passe par le centre de l'organite. Celui-ci présente un coeur (1) transparent aux électrons, sphérique, entouré d'un liseré (2) apparaissant, dans les cas les plus favorables, strié radialement. La couche (3) est dense aux électrons et apparaît (très localement) traversée par des profils membranaires radiaux qui se poursuivent dans la couche (4) et le halo (H). En B, C et D, coupes tangentielles passant respectivement par les couches 4 (Tg 4), 3 (Tg 3) et 2 (Tg 2). La coalescence du système membranaire semble s'accroître depuis H jusqu'à la couche 2. Elle se traduit par un aspect réticulé des coupes tangentelles passant par 3 et 2.

différentes couches sont nettes, puisque coupées transversalement. L'examen de coupes tangentielles, situées à des niveaux de plus en plus profonds dans le corps concentrique, a permis de faire les observations suivantes (fig. 5). On désigne par Tg 2, 3, 4, H, les coupes tangentielles passant respectivement par les couches 2, 3, 4, ou H du corps concentrique. Les coupes tangentielles qui passent au niveau de la couche 4 ou du halo, montrent des profils membranaires rassemblés mais indépendants les uns des autres (fig. 42, pl. XIV, et fig. 44 et 45, pl. XV). Les coupes passant par la couche 3 présentent un réseau comme si les profils membranaires s'anastomosaient (fig. 46 et 47, pl. XVI). Au niveau de la couche 2, ces anastomoses sont plus serrées. Elles donnent, à cette couche, en coupe tangentielle, un aspect réticulé (?) (fig. 44, pl. XV et fig. 47, pl. XVI). Les réticulations correspondent probablement aux profils rayonnants observés

Source : MNHN, Paris

sur les coupes transversales.

c) Relations des corps concentriques avec des systèmes tubulaires.

Il est assez fréquent de rencontrer dans la matrice claire qui rassemble de nombreux corps concentriques tout un système de fibres ou tubules. Dans les cellules coupées longitudinalement, ces fibres sont groupées parallèlement les unes aux autres, et cela aussi bien non loin des corps concentriques que dans les régions de la matrice où ces organites semblent absents (fig. 48 et 51, pl. XVII). En coupe transversale (fig. 50, pl. XVII), elles ont une forme circulaire que souligne un liseré sombre un peu étoilé. Elles sont, non pas indépendantes, mais reliées entre elles par un fin réseau de matière protéique, qui donne à leur ensemble un aspect arachnoïde. Ces fibres sont souvent liées à la présence de corps concentriques, mais elles peuvent tout aussi bien être présentes en l'absence de ces organites, comme c'est le cas dans les hyphes des rhizines.

Existe-t-il un rapport entre les corps concentriques et ce système de fibres? Lorsque les corps concentriques sont présents en même temps que les faisceaux de fibres, ils sont de préférence situés à leurs extrémités. A cet endroit, les tubules, qui étaient parallèles dans la matrice, changent de direction et s'incurvent, comme s'ils venaient se raccorder aux lamelles présentes dans le halo. La continuité entre fibres et lamelles semble effectivement réalisée sur quelques rares photographies électroniques (fig. 48 et 49, pl. XVII, flèche pennée). Signalons d'autres particularités observées à propos de ces systèmes de fibres; ils sont presque toujours proches d'un noyau; ils sont aussi très souvent au voisinage du plasmalemme; quelques photographies électroniques donnent même l'impression qu'une des extrémités du faisceau converge vers un point du plasmalemme (fig. 56, pl. XVIII, flèche double).

d) Nature chimique des corps concentriques.

Pour tenter de préciser la nature chimique des corps concentriques nous avons utilisé des contrastants divers et des tests cytochimiques, ainsi que des digestions enzymatiques.

Le rouge de ruthénium inclus dans le milieu de fixation souligne la présence d'un dépôt entre les lamelles au niveau de la couche 3, de granulations fines au sein de la couche 4 et de grains plus denses à sa périphérie. Il n'est pas possible de donner une interprétation de cette affinité pour le rouge de ruthénium.

L'ensemble du corps concentrique ne réagit pas au test de THIÉRY, aucune substance polysaccharidique n'entre donc dans sa constitution, alors que sur les mêmes préparations, le plasmalemme et le glycogène ont une réaction positive pour ce test. En particulier, certains replis profonds du plasmalemme, qui fortuitement se dirigent vers un groupe de corps concentriques, gardent une forte réactivité pour le test des polysaccharides, alors que le système membranaire des corps concentriques n'en a pas (fig. 57, pl. XIX: *Parmelia fuliginosa*). Le *Peltigera canina* ne montre pas de replis aussi profonds, mais cependant le plasmalemme réagit tout aussi bien au test de THIÉRY alors que les corps concentriques ne réagissent pas.

Source : MNHN, Paris

Des digestions par des enzymes protéolytiques ont été effectuées; elles ont été réalisées avec de la pronase, de la pepsine et de la trypsine, suivant un protocole déjà décrit dans le chapitre consacré aux techniques. A chaque digestion, correspond une grille témoin. Les résultats obtenus ne sont pas homogènes mais néanmoins il apparaît que le corps concentrique est en partie digéré surtout par la pronase et la pepsine.

Avec la pronase, la digestion semble assez complète; les couches 3 et 4 restent confondues et ne forment plus qu'une seule masse grise; les lamelles rayonnantes se distinguent à peine, et par endroits seulement (fig. 54, pl. XVIII et fig. 55, témoin). Avec la pepsine, l'ensemble du corps concentrique paraît décapé, mais les couches 2 et 3 restent assez distinctes; quant au système lamellaire, il est peu visible (fig. 52, pl. XVIII et fig. 53, témoin). La trypsine donne des résultats très irréguliers, qui sont surtout sensibles lorsque la digestion est effectuée sur pièce et non pas sur coupe. L'action en partie positive de ces digestions par des enzymes protéolytiques permet peut-être de conclure que le corps concentrique est de nature en partie protéique.

4. Les hyphes intramycéliennes.

Il n'est pas rare d'observer l'existence d'une hyphe à l'intérieur d'une autre hyphe; l'hyphe envahissante est appelée hyphe intramycélienne.

Les hyphes le plus souvent envahies sont surtout celles de la médulle, des rhizines et les hyphes à paroi épaisse du tomentum superficiel. L'hyphe intramycélienne chemine longitudinalement dans l'hyphe hôte, elle en bouscule et en déchire les septums, dont les débris se trouvent plaqués entre les deux parois (fig. 58, pl. XIX). Toutes les photographies électroniques observées se rapportent à ce cas, sauf une seule (fig. 60, pl. XIX), qui montre une hyphe intramycélienne traversant la paroi latérale d'une hyphe médullaire.

Le cytoplasme de l'hyphe intrusive présente les caractères d'une hyphe en croissance: le hyaloplasme y est dense, riche en inclusions, le plasmalemme y est sinueux. On y rencontre de nombreux noyaux, des corps concentriques, des mitochondries, des inclusions lipidiques. La vacuolisation apparaît ultérieurement, généralement lorsque l'hyphe-hôte, détruite, est complètement envahie.

L'hyphe intramycélienne a une paroi plus mince que celle des autres hyphes. L'hyphe envahie présente un cytoplasme dégénéré: les éléments figurés y sont déformés et méconnaissables. Souvent le cytoplasme sénescent est tassé en un mince liseré, très contrasté par les techniques usuelles (fig. 59, pl. XIX).

5. Relations avec les gonidies

En ce qui concerne le *Peltigera canina*, les hyphes traversent assez fréquemment la coque (fig. 6, pl. III); elles cheminent alors parallèlement à la paroi (fig. 35 et 38, pl. XII), en provoquant chez celle-ci une dépression. Les figures 61 et 62 de la planche XX représentent des cas extrêmes; le plus souvent un simple contact s'établit paroi à paroi avec une légère dépression de la paroi

Source : MNHN, Paris

gonidiale. Si les contacts hyphe-gonidie entraînent une déformation du phycobionte, ils provoquent aussi des modifications ultrastructurales dues à une physiologie activée du partenaire algal. Ces modifications ont été discutées dans l'article consacré à l'ultrastructure du *Nostoc* (BOISSIERE M.C., 1976).

DISCUSSION

L'étude cytologique réalisée sur le mycobionte du *Peltigera canina* à l'état végétatif a révélé un certain nombre de particularités qui méritent attention.

1. paroi, septums.

Les quatre couches que la microscopie électronique nous a révélées dans la paroi avaient déjà été distinguées en microscopie optique, grâce à l'utilisation conjointe de méthodes extractives et de colorations. La plus externe (4), de par sa disparition après extraction à l'eau bouillante et épuisement par des alcalis étendus se montre être de nature mucilago-hémicellulosique. La très forte réactivité au test de THIÉRY en apporte une confirmation. A propos de la couche 1 qui a le même comportement que la couche 4 à l'extraction, BOISSIERE J.C. (1972) a montré chez le *Peltigera canina* que l'élaboration de la paroi se faisait à partir de lomasomes déversant leur contenu dans la couche 1. En effet, le test de THIÉRY a permis de mettre en évidence les mêmes fibres de polysaccharides à la fois dans les poches cytoplasmiques à l'origine des lomasomes, dans les lomasomes et dans la couche 1 de la paroi. Lorsque le lomasome dont la membrane limitante est venue se raccorder au plasmalemme, déverse son contenu de fibres polysaccharidiques, la similitude entre les fibres provenant des lomasomes et celles visibles dans l'espace péricytoplasmique est frappante.

Les couches 2 et 3 constituent la zone moyenne qui subsiste seule après extraction des mucilages et des «hémicelluloses». Elles sont de nature calloso-chitineuse, car elles se colorent par les réactifs de la callose et de la chitine (BOISSIERE J.C., 1967, BOISSIERE J.C. et M.C., 1968). Cette zone moyenne représente pour la paroi une armature qui conserve au thalle sa structure après départ successif des mucilages et des «hémicelluloses» comme le révèle le microscope optique (BOISSIERE M.C., 1967).

Les couches 2 et 3 étroitement associées représentent du point de vue chimique la fraction alcalino-résistante dont nous avons étudié la composition (BOISSIERE M.C. et J.C., 1968).

A l'hydrolyse cette fraction libère de l'acétyl-glucosamine et du glucose; elle présente à la fois une réaction positive au test de VAN WISSELINGH (test de la chitine) et au bleu de résorcine (réactif de la callose). Ces deux polymères sont connus pour leur faible réactivité au test de THIÉRY; c'est ce que nous avons régulièrement observé dans nos préparations.

Source : MNHN, Paris

La structure du septum telle qu'elle est décrite dans nos résultats confirme nos anciennes observations de microscopie optique (BOISSIERE J.C. 1967, BOISSIERE J.C. et M.C., 1968). L'interprétation selon la terminologie de M. CHADEFAUD est résumée dans la figure 3 (dans le texte). Il faut cependant signaler une anomalie: les cupules épiloculaires et le mur annulaire qui présentent en microscopie optique des caractères callosiques, réagissent fortement au test de THIÉRY, ce qui ne devrait pas se produire. On peut imaginer que le polymère que nous nommons «callose» n'est pas un β 1-3 glucane non ramifié qui lui, ne réagirait pas.

2. Les corps de Woronin, les globules lipidiques et les phytolysosomes primaires

Les corps de Woronin sont connus chez nombre d'espèces et ont été étudiés par de nombreux auteurs. REICHLE et ALEXANDER (1965) ont remarqué qu'ils étaient limités par une membrane et que leur structure était peu visible. WERGIN (1973) a bien défini, chez le *Fusarium oxysporum*, trois sortes d'organites qu'il convient de savoir distinguer sans les confondre, à savoir: les microbodies, granules moyennement denses aux électrons, limités par une membrane unitaire et observés dans les jeunes hyphes, les sphérosomes, ou «lipid bodies», qui présentent un aspect homogène, sont peu denses aux électrons et dépourvus d'enveloppe membranaire, enfin les corps de Woronin denses aux électrons et limités par une membrane. Dans cette terminologie, les corps que nous avons appelé phytolysosomes primaires (COULOMB, 1971), ressemblent beaucoup à ce que cet auteur nomme microbodies. S'agit-il d'une simple convergence morphologique?

3. Le plasmalemme et ses déformations.

La réaction du plasmalemme des hyphes au test de THIÉRY et à l'APT à bas pH correspond peut-être à un revêtement rappelant le glycocalix («cell coat») que possèdent la plupart des cellules animales et beaucoup de cellules végétales (ROLAND et VIAN, 1971). Il est remarquable que cette réactivité existe également autour des vésicules cytoplasmiques appelées à se transformer en lomasomes. Ces résultats viennent pour VIAN (1972 et 1974) compléter les données cytochimiques montrant une restructuration des membranes cytoplasmiques avant que ne s'effectue leur fusion avec le plasmalemme.

Les lomasomes. Le plasmalemme des hyphes des Champignons libres présente des invaginations plus ou moins profondes; GIRBARDT (1961) les a décrites pour la première fois sous le nom de «border bodies», mais le terme le plus généralement utilisé pour les désigner est celui de lomasome, (MOORE et Mc ALEAR (1961), PEYTON et BOWEN (1963), BRACKER et BUTLER (1963), BERLIN et BOWEN (1964), SCHRANTZ (1966).

Des différenciations analogues se rencontrent dans les hyphes lichénisées. Signalées la première fois par PEVELING (1969) chez le *Peltigera canina*, elles

Source : MNHN, Paris

ont été observées chez le même lichen par BOISSIERE J.C. (1972), pour qui les lomasomes sont à l'origine de l'élaboration de la paroi des hyphes.

Le plasmalemme des hyphes, principalement celui des hyphes de la couche gonidiale, forme des replis très profonds, qui permettent sans doute d'accroître les échanges entre les symbiontes par augmentation de la surface de contact. Les invaginations du plasmalemme, qui s'enfoncent dans le cytoplasme, sont analogues aux «Plasmazotten» ou microvillosités signalées par PEVELING (1969). Elles sont rencontrées avec des amplitudes variables; celles du *Peltigera canina* sont plutôt faibles alors que chez les Lichens dont la gonidie est une Chlorophycée, par exemple le *Parmelia fuliginosa*, les digitations sont particulièrement allongées. Chez ce *Parmelia*, en particulier, les invaginations les plus profondes arrivent en contiguïté avec d'autres éléments membranaires du cytoplasme; on pouvait alors se demander si ces structures conserveraient leur caractère plasmalemmique ou si elles finissaient par s'intégrer aux systèmes membranaires cytoplasmiques. Nous avons vu qu'il n'en était rien, car elles conservent les mêmes affinités cytochimiques que le plasmalemme.

4. Les vacuoles.

Les résultats des tests cytochimiques ont permis de distinguer trois catégories de vacuoles : les unes sont positives au test de mise en évidence des peroxydases (DAB +) et négative au test de Gomori (Gomori –) pour la mise en évidence des phosphatases acides; d'autres présentent la réaction inverse, enfin les plus grandes sont insensibles à ces deux tests. En fait nous avons ramené ces trois types observés à deux lignées principales de vacuoles, pour les raisons suivantes : les petites vacuoles (DAB +) sont situées près de la zone de multiplication des cellules dans la marge du thalle (cortex et médulle jeunes); lorsqu'on s'éloigne de cette zone, on retrouve ces vacuoles dans le cortex et la médulle, où leur taille augmente progressivement, et où la réactivité au DAB est de plus en plus diluée; ensuite, dans les zones différenciées du thalle, ces mêmes vacuoles ne réagissent plus au test cytochimique de mise en évidence des peroxydases, elles sont parvenues au terme de leur évolution. Par contre les vacuoles Gomori + et DAB – ont une aire de répartition limitée aux hyphes gonidiales différenciées.

Il y a des relations entre ces vacuoles et des formations complexes d'origine plasmalemmique qui nous semblent comparables aux mésosomes des Bactéries. En effet dans les cellules des hyphes gonidiales, des vacuoles Gomori + et DAB – encerclent presque constamment de telles formations. Ces vacuoles de caractère particulier, ont été appelées L S ou vacuoles autophagiques, après que nous ayons constaté sur un matériel plus favorable (*Lichina pygmaea*, puis *Leptogium palmatum*) que des éléments ressemblant à des lysosomes venaient y déverser leur contenu enzymatique.

PEVELING (1972) avait déjà soupçonné que cette structure plasmalemmique, rappelant une figure mésosomienne, pouvait jouer un rôle dans l'absorption des glucides, mais elle attribuait à la vacuole un simple rôle de stockage

Source : MNHN, Paris

glucidique. L'utilisation du test de THIÉRY, beaucoup plus spécifique pour la caractérisation des polyglucosides que le Carmin de Best, qui n'est pas un test cytochimique (THIÉRY, 1967), a permis de réfuter l'interprétation de PEVELING. Il met en évidence des polyglucosides au niveau des lamelles de la structure mésosomienne, mais pas dans la vacuole autophagique encerclant cette structure. Les vacuoles autophagiques (L S) hydrolysent le «mésosome» dans sa totalité, grâce à l'apport enzymatique des lysosomes; les glucides sont repolymérisés dans le cytoplasme sous forme de glycogène.

L'assimilation des vacuoles L I à des lysosomes est d'autre part justifiée par leur richesse lipidique et leur ressemblance morphologique avec les lysosomes des végétaux supérieurs tels que les a décrits COULOMB (1971).

WEBBER et WEBBER (1970) observent des structures analogues: mésosome lamellaire sur lequel viennent s'appliquer des lysosomes dans des haustoriums du *Parmelia sulcata*. Ils donnent à ce complexe l'interprétation suivante : les lysosomes pourvoient la structure mésosomienne en enzymes destinées aux digestions extracellulaires de la paroi, et ultérieurement du contenu cellulaire de la gonidie par l'haustorium. Cette interprétation a été faite sans l'utilisation de tests cytochimiques spécifiques, or il est vraisemblable que chez le *Parmelia sulcata* comme chez le *Lichina pygmaea* et le *Peltigera canina*, le mésosome contient des polyglucosides d'origine algale et qu'il fonctionne d'une manière centripète et non centrifuge. BOUSFIELD et PEAT (1976) avaient également signalé l'existence de «mesosome-like» dans le mycobionte du *Collema tenax*.

5. Les corps concentriques.

Un autre élément remarquable que nous avons essayé de cerner de plus près est constitué par les corps concentriques. Leur présence semble caractériser les hyphes lichénisées d'Ascomycètes, car dans les Basidiolichens, par exemple le *Cora pavonia*, étudié par ROSKIN (1970), il n'en a pas été observé jusqu'à présent. Toutefois cela demanderait confirmation. Non seulement ces organites ont été décelés chez le *Peltigera canina*, mais on les a retrouvés chez beaucoup d'autres Lichens à gonidies Cyanophycées ou Chlorophycées. Ce sont les hyphes de la couche gonidiale des thalles différenciés qui en sont le plus richement pourvues.

Il existe cependant des Lichens pour lesquels les hyphes ne contiennent pas de corps concentriques: deux espèces de *Gonohymenia* signalées par PARAN (1971), et le Lichen aquatique *Hydrothyria venosa*, selon JACOBS et AHMADJIAN (1973). L'absence de corps concentriques chez cette dernière espèce serait due, d'après ces auteurs, à l'habitat aquatique. Par contre, le nombre de ces corps semble accru chez les espèces Xérophytiques: *Aspicilia, Lecidea, Rhizocarpon, Heppia* et *Peltula*. PEVELING (1969) avait également signalé la présence de corps concentriques chez des espèces à répartition tropicale et subtropicale. L'absence de ces organites chez les *Gonohymenia* est peut-être due à ce que la Cyanophycée est un *Gloeocapsa*, car l'une de ces espèces a un habitat xérique, l'autre tempéré.

Source : MNHN, Paris

Les corps concentriques ont été le plus souvent signalés dans les hyphes végétatives, mais nous en avons aussi observé de nombreux dans les paraphyses du *Peltigera canina*. Par contre, nous n'en avons pas trouvé dans les asques de ce Lichen. ASCASO (1975), toutefois, mentionne leur existence dans les ascospores du *Rhizocarpon geographicum*.

Les corps concentriques sont-ils l'apanage des hyphes lichénisées? Peut-être pas. En effet :

- BELLEMERE (1973) observe dans les hyphes libres d'Ascomycètes non lichénisants des corps concentriques semblables à ceux des Lichens.

- GRANETT (1974) trouve les mêmes organites dans les hyphes périthéciales et dans les conidiophores de l'Ascomycète *Venturia inaequalis*. Il faut toutefois remarquer que si ce champignon n'est pas symbiotique, il parasite des Pommiers sur lesquels il provoque la tavelure des pommes.

- Des corps concentriques ont été également signalés dans les hyphes non lichénisées du Loculoascomycète *Rhodographus filicinus*.

Malgré ces exceptions, on peut considérer qu'en règle générale ce sont des organites des hyphes lichénisées, et qu'on ne les rencontre qu'accidentellement chez les Champignons libres; leur absence chez certains Ascolichens peut aussi être considérée comme accidentelle.

Après examen d'un nombre important de photographies électroniques, nous avons pu préciser la structure des corps concentriques. La forme observée pour ces organites est celle décrite par la plupart des auteurs, sauf BROWN et WILSON (1968), pour lesquels les corps concentriques ont une forme ellipsoïdale. La structure que nous avons observée correspond globalement à celle décrite par les auteurs; signalons cependant des différences quant à la nomenclature des couches composant le corps concentrique (voir figure 5, dans le texte). Ainsi la couche 2 n'est pas nommée par les auteurs, qui l'assimilent à une membrane unitaire, tandis que nous l'interprétons comme étant le départ ou l'arrivée d'un réseau de lamelles perpendiculaires à cette couche. Sur les coupes transversales de corps concentriques la couche 2 a un aspect strié. La couche 3 ne nous apparaît pas comme uniformément granuleuse; elle est traversée par un système de membranes radiaires; ces membranes étant amalgamées par une substance sombre aux électrons. D'après nos observations, le système rayonnant de lamelles aurait son point de départ au niveau de la couche 2, il traverserait l'ensemble des couches 3 et 4 et le halo, pour ensuite s'estomper dans le cytoplasme. Or GRIFFITHS (1972), observe le système lamellaire à partir de la couche 4 seulement. Le raccordement orthogonal de ce système membranaire radiaire sur des couches concentriques, tel que le conçoit cet auteur, conduit à une structure compliquée. Par contre, si on admet que l'essentiel de l'ossature du corps concentrique est constitué par un système de membranes à disposition radiaire, celles-ci étant enrobées dans une substance granuleuse formant les couches concentriques plus ou moins denses aux électrons, la structure devient plus homogène, et à notre avis plus satisfaisante. Cette conformation permettrait d'expliquer plus aisément la variabilité du nombre et de l'aspect des différentes couches denses et concentriques. PEVELING

Source : MNHN, Paris

(1969) avait en effet remarqué que ces couches subissaient des simplifications après une période de dessication et avait supposé que cet organite pouvait intervenir dans un processus d'adaptation à la sécheresse.

L'origine des corps concentriques demeure pour nous inconnue, aussi nous ne proposerons à ce sujet que des hypothèses. Bien que des corps concentriques aient été observés dans les ascospores du *Rhizocarpon geographicum* (ASCASO, 1975), cette observation, unique, ne permet pas de conclure que la transmission de ces organites se réalise par cette voie, à moins que ce soit sous une forme non identifiable. Il faut donc admettre que les corps concentriques apparaissent *de novo* dans le cytoplasme du mycobionte, sous l'influence de facteurs externes, peut-être la chaleur? ou bien à partir de précurseurs non décelés? Cependant nous avons imaginé une autre possibilité pour expliquer l'origine de ces organites; ce serait à partir de petits nodules denses aux électrons, desquels partent des membranes plasmiques et qui se formeraient *de novo*; les corps concentriques en dériveraient ultérieurement.

Le lieu d'apparition correspond à la zone de multiplication des cellules dans la marge du thalle (Z2). Nous y avons observé de très nombreux corps concentriques: le nombre de groupes de corps concentriques dans cette zone ainsi que leur nombre dans chaque groupe sont plus importants que dans toutes les autres régions du thalle. En effet, le cortex, la médulle et même la couche gonidiale contiennent des groupes épars avec seulement quelques corps concentriques. Tout se passe comme si la formation de ces organites se limitait à cette zone uniquement. Ils sont ensuite répartis d'une manière passive dans les différentes catégories d'hyphes du thalle différencié, constituant les zones Z1, Z3, Z4 et Z5. Leur nombre ne cesse de décroître au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la zone de multiplication des cellules c'est ce qui nous permet de dire que les corps concentriques ne se multiplient pas hors de cette zone.

Leur rôle reste également énigmatique, mais comme les corps concentriques représentent un foisonnement membranaire, en tant que tel il est permis de penser qu'ils favorisent l'augmentation d'une surface propice à une action catalytique, mais ce n'est qu'une hypothèse. Un autre aspect n'est peut-être pas à négliger; celui de la contiguïté de la matrice des corps concentriques avec l'extrémité de systèmes tubulaires. L'importance de ces derniers dans les phénomènes de transport intracellulaire est connue comme dans les rhizomorphes par exemple.

6. La cytologie ultrastructurale semble apporter quelques éléments aux problèmes des relations entre les symbiontes ?

Ces relations de nature physiologique retentissent sur les ultrastructures des constituants cytologiques. On serait porté à croire que la symbiose entre les deux hôtes est à bénéfices réciproques, les Lichens apparaîssant en des lieux inhospitaliers où les partenaires, pris séparément, ne pourraient se développer. Cela est une observation courante et justifiée, mais elle n'exclut pas forcément que la symbiose puisse résulter d'une lutte sévère, mais équilibrée,

Source : MNHN, Paris

entre les partenaires.

Les hyphes gonidiales apparaissent plus richement pourvues que les autres hyphes du thalle en corps concentriques, en ribosomes, en lomasomes, en glycogène, lysososmes, globules lipidiques et mitochondries; elles jouissent donc d'une activité métabolique importante, en rapport naturellement avec la présence du phycobionte. Cet aspect cytologique rappelle, en certains points, celui des hyphes intramycéliennes et des haustoriums des champignons parasites dont le cytoplasme est également beaucoup plus riche en éléments figurés que celui de la cellule envahie. C'est cette analogie entre des hyphes purement parasites et les hyphes de la couche gonidiale des Lichens qui est, à notre avis l'un des traits les plus significatifs de la tendance parasitaire des hyphes de la couche gonidiale.

CONCLUSION

L'étude ultrastructurale et cytochimique du Lichen *Peltigera canina* se termine par l'examen du mycobionte.

I. MISE EN PLACE DES STRUCTURES DU THALLE DIFFÉRENCIÉ

Pour parvenir à ce but nous avons observé la marge d'un lobe en croissance. Dans un massif cellulaire contenant des hyphes et des cellules du *Nostoc*, situé à 60μm de la marge, les cellules se multiplient activement. Celles des hyphes sont larges, contournées, à paroi mince, elles ont un cytoplasme dense, riche en mitochondries, ribosomes et corps concentriques, et en petites vacuoles. Celles du *Nostoc* ont également un cytoplasme dense; elles forment des trichomes courts.

A partir de cette région, le matériel commence à se différencier dans plusieurs directions.

Vers l'arrière, il se dispose en un faisceau d'hyphes axiales parallèles et longitudinales, dont l'élongation est responsable de la croissance marginale du thalle; la zone de multiplication est alors repoussée vers l'avant. Ces files axiales forment une nappe épaisse, qui constitue la partie supérieure de la médulle.

Dorsalement, ventralement et sur les bords du lobe, des files pleuridiennes formées de cellules courtes se développent :

- Les plus externes de ces cellules épaississent fortement et rapidement leur paroi, pour former le tomentum superficiel, qui par suite de la croissance se disperse sur les faces du thalle.

- Les files pleuridiennes dorsales, beaucoup plus nettes se disposent parallèlement les unes aux autres. Leurs cellules sont larges, courtes et soudées entre elles par un mucilage. Leur cytoplasme se vacuolise. La partie externe

Source : MNHN, Paris

des pleuridies ainsi constituée forme le cortex du thalle. Au-dessous de celui-ci, les hyphes sont moins ordonnées, plus ramifiées, et à paroi plus mince; elles semblent conserver un caractère indifférencié. Leur cytoplasme est dense, riche en mitochondries, en structures mésosomiennes, en vacuoles autophagiques. Elles sont associées au *Nostoc*, dont les trichomes se sont pelotonnés pour former la couche gonidiale.

- Les files pleuridiennes ventrales, désordonnées, font ensuite partie intégrante de la médulle.

Cette interprétation est une adaptation dans un plan de la structure réalisée chez les Algues cladomiennes multiaxiales.

La connaissance de l'ontogénie des différents «tissus» du thalle permet alors de mieux comprendre l'évolution cytologique qui lui est concomitante.

II. LE MYCOBIONTE A L'ÉTAT VÉGÉTATIF.

La paroi

Deux couches essentielles (2) et (3) forment l'armature de la paroi de toutes les hyphes du thalle. Elles sont souvent difficiles à distinguer l'une de l'autre (mêlées?). Elles sont formées de fibres chitineuses et d'un β-1-3 glucane, ayant des orientations différentes. La couche (1), interne par rapport aux précédentes, est mince et formée de polysaccharides extractibles à l'eau ou la potasse. A l'extérieur de cet ensemble, une quatrième couche (4), surtout mucilagineuse, est toujours présente; elle peut s'épaissir et cimenter les hyphes entre elles (tomentum, cortex, rhizines).

Les couches médianes de la paroi (2 et 3), participent à la structure de chaque septum. Celui-ci, souvent uniperforé, peut aussi être triperforé ou multiperforé, dans la médulle et les rhizines. Les pores peuvent être très nombreux (jusqu'à 25), leur présence fait alors ressembler le septum à un véritable crible. Cette disposition suggère un rôle conducteur des grosses hyphes médullaires et des rhizines.

Le protoplasme

A) Les organites et inclusions protoplasmiques ne présentent pas une grande différence entre les hyphes du Lichen et celles des Ascomycètes non lichénisés. Nous les avons cependant examiné avec le plus grand soin.

Les noyaux, sont isolés ou groupés par deux ou trois dans les articles. Ceux que l'on rencontre dans certaines hyphes très différenciées, possèdent une enveloppe nucléaire profondément lobée.

Au sein du cytoplasme, les ribosomes ont une répartition très inégale. Il est remarquable que les plus grandes densités en ribosomes soient observées à la fois dans les hyphes de la zone de multiplication de la marge du thalle et dans celles de la couche gonidiale. Cette similitude coïncide avec un état indifférencié du matériel cellulaire. Les hyphes différenciées et vacuolisées

Source : MNHN, Paris

du cortex et de la médulle ont un hyaloplasme beaucoup plus pauvre.

La répartition des mitochondries est relativement semblable à celle des ribosomes: nombreuses dans les hyphes indifférenciées de la marge et de la couche gonidiale. Elles sont courtes dans la marge du thalle, un peu plus longues près des gonidies, et souvent vermiformes dans les hyphes différenciées du cortex, de la médulle et surtout des rhizines.

Parmi les enclaves classiques des hyphes, nous avons souligné le très grand nombre des corps de Woronin, au voisinage des septums multiperforés ou quelques uns obturent parfois les pores. Ils sont surtout protéiques.

Les globules lipidiques sont abondants dans les hyphes proches des gonidies, dans les hyphes intramycéliennes et dans les articles contigus à des cellules altérées. Ils représentent sans doute une forme de réserve; mêlés aux corps de Woronin, ils s'en distinguent pourtant aisément.

Le glycogène, mis en évidence cytochimiquement pour la première fois dans les hyphes de Lichens en microscopie électronique, se présente sous forme de particules β classiques, qui sont libres ou associées en rosettes α. Le glycogène peut se rencontrer dans beaucoup de régions du thalle, mais il est toujours présent dans les minces hyphes de la couche gonidiale.

B) Les éléments dont la présence nous semble liée à la vie symbiotique ont retenu plus particulièrement notre attention.

Ainsi, les déformations du plasmalemme sont complexes. Il y a :

- des villosités profondes, qui doivent permettre une augmentation de la surface d'échange;

- de véritables lomasomes, qui déversent des éléments polysaccharidiques entrant dans la constitution de la paroi;

- des replis complexes, ressemblant aux «mésosomes bactériens», fortement réactifs aux contrastants des polysaccharides; ils semblent impliqués dans un processus d'absorption des métabolites (principalement polysaccharidiques) d'origine algale.

L'observation de la différenciation des hyphes, et la mise en oeuvre de tests cytochimiques, nous ont permis de déceler deux lignées de vacuoles.

La première lignée est positive au test de mise en évidence des peroxydases (DAB +) et négative au test de Gomori pour les phosphatases acides. Elle correspond aux vacuoles banales rencontrées dans le cortex et la médulle. On peut déceler grâce à leur réactivité, l'origine de ces vacuoles dans la zone de multiplication du thalle. En effet, au fur et à mesure de leur différenciation, en même temps qu'elles augmentent de taille, la réaction au DAB, d'abord très intense, diminue, et devient nulle.

La deuxième lignée (DAB – et Gomori +) a une autre répartition, limitée aux hyphes de la couche gonidiale. Ce sont des vacuoles «autophagiques», pourvues d'un système hydrolasique, qu'émettent des éléments ressemblant à des lysosomes primaires. Ces vacuoles encerclent la formation à allure de mésosome, et la détruisent progressivement, grâce à leur équipement enzyma-

Source : MNHN, Paris

tique. Les glucides d'origine algale, sans doute libérés, sont repolymérisés, dans le cytoplasme voisin, sous forme de glycogène.

Le complexe «mésosome - vacuole autophagique - lysosome primaire» a été observé chez le *Lichina pygmaea*, le *Leptogium palmatum* et chez le *Peltigera canina*.

Les corps concentriques.

En règle générale, ce sont des organites propres aux hyphes lichénisées, et leur absence chez quelques Ascolichens doit être interprétée comme accidentelle, de même que leur présence dans les hyphes d'Ascomycètes non lichénisants. Toutefois certains de ceux-ci sont parasites, et la présence de ces organites est peut-être liée à ce mode de vie. Les Basidiolichens sont dépourvus de corps concentriques, mais le seul exemple étudié, celui du *Cora pavonia*, ne suffit peut-être pas pour étendre cette observation à l'ensemble de ce groupe de Lichens.

La structure du corps concentrique est homogène. L'essentiel de sa trame est constitué par un ensemble de membranes rayonnantes, lesquelles sont enrobées dans une substance granuleuse formant des couches concentriques plus ou moins denses aux électrons.

Des digestions enzymatiques ont permis d'établir que les corps concentriques sont de nature en partie protéique.

L'origine de ces corps n'a pas été élucidée, mais par contre il a été constaté que leur lieu d'apparition se situe dans une zone privilégiée, qui est exclusivement la zone de multiplication des cellules, dans la marge du thalle. A partir de cette zone, s'établit une véritable distribution des corps concentriques vers les autres zones différenciées du thalle, où leur nombre est plus réduit : tomentum, cortex, couche gonidiale, médulle. Aucune figure de division n'a pu être observée.

Le rôle attribué à ces organites n'est qu'hypothétique : il serait de représenter une surface propice à une action catalytique, en rapport avec leur constitution membranaire. La présence fréquente d'un système tubulaire à leur voisinage peut aussi suggérer un rôle dans les phénomènes de transports intracellulaires.

L'aspect des hyphes de la couche gonidiale

Les hyphes de la couche gonidiale sont toujours plus largement pourvues que les autres hyphes du thalle, en corps concentriques, ribosomes, «mésosomes», mitochondries, lysosomes et glycogène; leur activité métabolique est importante. Ces caractères cytologiques rappellent ceux des hyphes intramycéliennes et des haustoriums des Champignons parasites.

Source : MNHN, Paris

BIBLIOGRAPHIE

AHMADJIAN V. et JACOBS J.B., 1970 — The ultrastructure of Lichens III. *Endocarpon pusillum*. *Lichenologist* 4 : 268-270.

ASCASO C. et GALVAN J., 1975 — Concentric bodies in three lichens species. *Arch. Microbiol.* 105 : 129-130.

BELLEMERE A., 1973 — Observation de «corps concentriques» semblables à ceux des Lichens dans certaines cellules de plusieurs Ascomycètes non lichénisants. *C. R. Acad. Sc. Paris* 276 : 949-952.

BERLIN J.D. et BOWEN C.C., 1964 — The host-parasite interface of *Albugo candida* on *Raphanus sativus*. *Amer. J. Bot.* 51 : 445-452.

BLANQUET P.R., 1976 — Ultrahistochemical study on the ruthenium red surface staining. II. Nature and affinity of the electron dense marker. *Histochemistry* 47 : 175-189.

BOISSIERE J.C., 1967 — La chitine chez quelques Lichens; mise en évidence, localisation. *Mémoire Soc. bot. France*, Colloque sur les Lichens : 141-150.

BOISSIERE J.C., 1972 — Étude ultrastructurale de l'édification des parois des hyphes du *Peltigera canina* (L.) Willd. *Rev. Cytol. et Biol. Vég.* 35: 1-16.

BOISSIERE J.C. et M.C., 1968 — Structure du septum et de la paroi des hyphes de *Peltigera canina* (L.) Willd. *C. R. Acad. Sc. Paris* 267 : 704-707.

BOISSIERE M.C., 1967 — Les hémicelluloses chez quelques Lichens: composition, localisation. *Mémoires Soc. bot. France*, Colloque sur les Lichens : 151-159.

BOISSIERE M.C., 1972 — Cytologie du *Peltigera canina* (L.) Willd. en microscopie électronique : I. Premières observations. *Rev. gén. bot.* 79: 167-185.

BOISSIERE M.C., 1973 — Activité phosphatasique neutre chez le phycobionte de *Peltigera canina* comparée à celle d'un *Nostoc* libre. *C. R. Acad. Sc. série D*, 277 : 1649-1651.

BOISSIERE M.C., 1976 — Cytologie du *Peltigera canina* (L.) Willd. en microscopie électronique. II. Le *Nostoc* libre et lichénisé; étude comparative. *Rev. Cyt. Biol. Vég.* 39: 139-199.

BOISSIERE M.C., 1977 — Un mécanisme possible d'absorption des glucides d'origine cyanophytique par les hyphes de quelques Lichens. *Rev. Bryol. et Lichénol.* 42, 2: 617-635.

BOISSIERE M.C. et J.C., 1968 — Composition de la fraction alcalino-résistante des hyphes de *Peltigera canina* (L.) Willd. *Rev. Gén. Bot.* 75: 395-402.

BOISSIERE M.C. et J.C., 1970 — Les mucilages du *Peltigera canina* (L.) Willd., étude qualitative et quantitative. Bilan analytique des parois de ce Lichen. *Rev. Gén. Bot.* 77: 85-96.

BOUSFIELD J. et PEAT A., 1976 — The ultrastructure of *Collema tenax* with particular reference to microtubule like inclusions and vesicle production by the phycobiont. *New Phytol.* 76: 121-128.

BRACKER C.E. et BUTLER E.E., 1963 — The ultrastructure and development of septae in hyphae of *Rhizoctonia solani*. *Mycologia* 55: 35-58.

BROWN R.M. et WILSON R., 1968 — Electron microscopy of the Lichen *Physcia aipolia* (Ehrh.) Nyl. *J. Phycol.* 4: 230-240.

CHADEFAUD M., 1960 — Les végétaux non vasculaires (Cryptogamie). In: Traité de Botanique Systématique (Ed. L. EMBERGER et M. CHADEFAUD), Paris.

CHADEFAUD M., 1968 — La morphologie des végétaux inférieurs: données fondamentales et problèmes. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, (Colloque de Morphologie 1967) : 5-41.

Source : MNHN, Paris

COULOMB P., 1971 — Mise en évidence de particules analogues aux lysosomes animaux chez les végétaux: les phytolysosomes, (Thèse).

DEIXHEIMER J. et BOTTON B., 1975 — Sur la structure de l'apex du rhizomorphe du *Sphaerostilbe repens* B. et Br. (Ascomycètes). *C. R. Acad. Sc.* 281: 1093-1096.

DROCHMANS P., 1962 — Morphologie du glycogène. *J. Ultrastruc. Res.* 6: 141-163.

ELLIS E.A., 1975 — Observations on the ultrastructure of the Lichen *Chiodecton sanguineum*. *The Bryologist* 78, 4: 471-476.

FAHSELT D., HAYDEN D.B. et MIRANDO M., 1973 — Structure of the Lichen *Parmelia aurulenta*. *Can. J. Bot.* 51: 2197-2200.

GALUN M., PARAN N. et BEN-SHAUL Y., 1971 — Fungus-Alga association in lichens of the Teloschistaceae : an ultrastructural study. *New Phytol.* 70: 837-839.

GALUN M., KUSHNIR E., BEHR L. et BEN-SHAUL Y., 1973 — Ultrastructural investigation on the Alga-Fungus relation in Pyrenocarpous Lichen species. *Protoplasma* 78: 187-193.

GALUN M., BEHR L. et BEN-SHAUL Y., 1974 — Evidence for protein content in concentric bodies of lichenized fungi. *J. Microscopie* 19: 193-196.

GIRBARDT M., 1961 — Licht und elektronmikroskopische Untersuchungen an *Polystictus versicolor*. 2. Die Feinstruktur von Grundplasma und Mitochondrien. *Arch. Mikrobiol.* 39: 351-359.

GRAHAM R.C. et KARNOVSKY M.J., 1966 — The early stages of absorption of injected horseradish peroxydases in the proximal tubules of mouse kidney: ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.* 14: 291-302.

GRANETT A.L., 1974 — Ultrastructural studies of concentric bodies in the ascomycetous fungus *Venturia inaequalis*. *Can. J. Bot.* 52: 2137-2139.

GRIFFITHS H.B. et GREENWOOD A.D., 1972 — The concentric bodies of lichenized fungi. *Arch. Mikrobiol.* 87: 285-302.

HAYES W.C. et WUJEK D.Z., 1973 — Ultrastructure of the lichen *Xanthoria fallax*. *Transaction of the Kansas Academy of Science* 76, 3 : 234-243.

JACOBS J.B. et AHMADJIAN V., 1969 — The ultrastructure of Lichens. I. A general survey. *J. Phycol.* 5: 227-240.

JACOBS J.B. et AHMADJIAN V., 1973 — The ultrastructure of Lichens. V. *Hydrothyria venosa*, a freshwater lichen. *New Phytol.* 72: 155-160.

KARNOVSKY M.J., 1965 — A formaldehyde-glutaraldehyde fixation of high osmolarity for use in electron microscopy. *Jour. Cell. Biol.* 27: 137a.

LETROUIT-GALINOU M.A. et LALLEMANT R., 1971 — Le thalle, les apothécies et les asques du *Peltigera rufescens* (Weis.) Humb. (Discolichen, Peltigeracées). *Lichenologist* 5: 59-88.

MOORE R.T. et Mc ALEAR J.H., 1961 — Fine structure of Mycota. 5. Lomasomes preciously uncaracterized hyphal structures. *Mycologia* 53 : 194-200.

PARAN N., BEN-SHAUL Y. et GALUN M., 1971 — Fine structure of the blue-green phycobiont and its relation to the mycobiont in two *Gonohymenia* lichens. *Arch. Mikrobiol.* 76: 103-113.

PENEL C. et SIMON C.A., 1976 — A stochastic approach to the problem of sampling and slicing in histology. Application to the determination of the number and size-distribution of spherical structures. *J. Microscopie Biol. Cell.* 26: 107-113.

PEVELING E., 1969 — Elektronenoptiche Untersuchungen an Flechten III. Cytologische Differenzierungen der Pilzzellen im Zusammenhang mit ihrer symbiotischen lebensweise. *Z. Pflanzenphysiol.* 61, 2: 151-164.

PEVELING E., 1972 — Mesosomen-ähnliche Strukturen im Mycobionten von *Lichina pygmaea*. *Z. Naturforsch.* 27 b: 1388-1392.

Source : MNHN, Paris

PEYTON G.A. et BOWEN C.C., 1963 — The host-parasit interface of *Peronospora manshurica* on *Glycine max*. *Amer. J. Bot.* 50: 787-797.

REICHLE R.E. et ALEXANDER J.V., 1965 — Multiperforate septations, Woronin bodies and septal plugs in *Fusarium*. *J. Cell. Biol.* 24: 489-496.

ROLAND J.C. et VIAN B., 1971 — Réactivité du plasmalemme végétal, étude cytochimique. *Protoplasma* 73: 121-137.

ROSKIN P.A., 1970 — Ultrastructure of the host-parasit interaction in the basidiolichen *Cora pavonia* (Web.) E. Fries. *Arth. Mikrobiol.* 70: 176-182.

SCHRANTZ J.P., 1966 — Contribution à l'étude de la formation de la paroi sporale chez *Pustularia cupularis* (L.) Fuck. *C. R. Acad. Sc.* 262: 1212-1215.

SCHRANTZ J.P., 1968 — Ultrastructure et localisation du glycogène chez l'Ascomycète *Galactinia plebeia* Le Gal. *Rev. Cytol. et Biol. vég.* 31: 151-154.

SEXTON R., CRONSHAW J. et HALL J.L., 1971 — A study of the Biochemistry and Cytochemical localization of β- glycerophosphatase activity in roots tips of Maize and Pea. *Protoplasma* 73: 417-441.

SPURR A.R., 1969 — A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastr. Res.* 26: 31-43.

THIÉRY J.P., 1967 — Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscopie* 6: 987-1018.

VIAN B., 1972 — Aspects, en cryodécapage, de la fusion des membranes des vésicules cytoplasmiques et du plasmalemme lors des phénomènes de secrétion végétale. *C. R. Acad. Sc.* 275: 2471-2474.

VIAN B., 1974 — Recherches sur les relations ultrastructurales et ontogéniques entre plasmalemme et paroi dans les cellules végétales en croissance. Thèse, A.O. 10178.

WEBBER M.M. et WEBBER P.J., 1970 — Ultrastructure of lichen haustoria symbiosis in *Parmelia sulcata*. *Can. J. Bot.* 48: 1521-1524.

WERGIN W.P., 1973 — Development of Woronin bodies from microbodies in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Protoplasma* 76: 249-260.

WETMORE C.M., 1973 — Multiperforate septa in Lichens. *New Phytol.* 72: 535-538.

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche I

Fig. 1: **Marge du thalle.** Mise en place de la structure hétéromère. Z1, extrême bord du thalle; Z2, zone de multiplication; Z3, pleuridies dorsales, à l'origine du cortex; Z4, file de cellules axiales, à l'origine du sommet de la médulle; Z5, pleuridies ventrales, qui donneront le reste de la médulle. Glutataldéhyde-osmium; acétate d'uranyle-citrate de plomb, x 1 000. — Fig. 2: **Structure hétéromère du thalle** : thalle différencié jeune (à 2,2 mm de la marge). C, cortex; CG, couche gonidiale; M, médulle; T, tomentum. Même technique que pour la fig. 1, x 1000.

Source : MNHN, Paris

Planche II : Le Cortex

Fig. 3: Le cortex est constitué par des hyphes aux articles courts, étroitement soudées entre elles par un ciment de nature polysaccharidique (test de THIÉRY positif). L'ensemble des hyphes forme des files verticales qui traversent toute l'épaisseur du cortex. Des bactéries sont visibles à la surface (flèche). G, gonidies; Mu, mucilage. Glutaraldéhyde-osmium; TCH, 3 heures, x 2000. — Fig. 4: Lorsque le thalle est bien différencié, les hyphes corticales se distinguent par leur vacuolisation. Va, vacuoles. Glutaraldéhyde-osmium, triple coloration selon SOLOFF; permanganate, acétate d'uranyle-citrate de plomb. x 6400.

Planche III : La couche gonidiale

Fig. 5: Cette couche a une épaisseur réduite et se distingue aisément par l'élément cyanophytique; de nombreux hétérocystes sont visibles. C, cortex; G, gonidie; Hé, hétérocyste; M, médulle. Glutaraldéhyde-osmium, technique de THIÉRY, TCH, 3 heures, x 2000. – Fig. 6: Les hyphes de la couche gonidiale, de forme contournée, s'insinuent entre les gonidies; des contacts étroits s'établissent entre les symbiontes, entraînant la disparition de la coque des gonidies et l'amincissement de la paroi du mycobionte. Ce dernier possède un plasmalemme sinueux avec des villosités. G, gonidie; N, noyau; Vi, villosités. Osmium, acétate d'uranyle-citrate de plomb, araldite, x 12000.

Planche IV : La médulle

Fig. 7: Petites hyphes de la médulle. Elles ont des articles étroits et allongés; elles présentent de nombreuses petites vacuoles de forme arrondie, contenant des précipités opaques aux électrons; des corps concentriques groupés sont visibles. CC, corps concentriques; Mu, mucilage, N, noyau; Va, vacuole. KARNOVSKY, acétate d'uranyle-citrate de plomb, araldite, x 10000. — Fig. 8 et 9: **Grandes hyphes de la médulle.** Ce sont des hyphes larges, aux articles longs, pourvues de septums multiperforés, dont les pores sont souvent obturés par des corps de Woronin. Le système vacuolaire présente une évolution caractéristique: de petites vacuoles anguleuses avec précipité vacuolaire sont d'abord isolées, puis des fusions s'opèrent et les précipités disparaissent. Au terme de l'évolution, une seule vacuole peut subsister. CW, corps de Woronin; Lo, lomasome; Mi, mitochondrie; Pa H, paroi de l'hyphe; Po, pore; S, septum; Va, vacuole. Fig. 8: Glutaraldéhyde-osmium, acétate d'uranyle-citrate de plomb, x 6400; fig. 9: même fixation, technique de THIÉRY, TCH 1 heure, x 8000.

Planche V: Les rhizines

Fig. 10: Vue d'ensemble d'une rhizine, constituée par des faisceaux d'hyphes parallèles entre elles. Le contact de ces hyphes est assez lâche, leur cytoplasme est bien vacuolisé. – Fig. 11 et 12: Les hyphes différenciées possèdent un plasmalemme sinueux, des lomasomes, plusieurs vacuoles, des noyaux, des mitochondries très allongées et un système complexe de fibrilles. Les septums sont multiperforés, et au voisinage des pores se rencontrent des corps de Woronin, différents des globules lipidiques. CW, corps de Woronin; F, fibrilles; Li, lipide; Lo, lomasome; Mi, mitochondrie; N, noyau; Va, vacuole. Glutaraldéhyde-osmium, acétate d'uranyle-citrate de plomb; Fig. 10, x 3240; Fig. 11, x 10200; Fig. 12, x 12000.

Planche VI: La paroi des hyphes (technique de THIÉRY)

Fig. 13: **Hyphe de la couche médullaire.** Un mucilage de nature polysaccharidique est en continuité avec la couche 4 de la paroi (flèche). Mu, mucilage; Plm, plasmalemme. Glutaraldéhyde-osmium; THC 1 h; x 17500. — Fig. 14: Coupe longitudinale d'une **hyphe de rhizine.** Les quatre couches de la paroi se distinguent aisément, ainsi que la complexité du septum. 1. 2. 3. 4: couches de la paroi; S, septum. Glutaraldéhyde-osmium, TCH 3 h.

Source : MNHN, Paris

x 15000. — Fig. 15: **Hyphe du cortex.** Un léger décapage à la pepsine permet de mieux distinguer les fibres polysaccharidiques en voie d'incorporation qui constituent la couche 1 de la paroi. Les lomasomes participent aussi au dépôt de ces fibres. Le plasmalemme et ses différenciations réagissent positivement au test de THIÉRY. 1. 2. 3. 4: couches de la paroi; Lo, lomasome; PLM, plasmalemme. Glutaraldéhyde-osmium. Pepsine, TCH 22h, Épon. x 65000. — Fig. 16: **Coupe transversale d'une hyphe du bord du thalle.** Un léger décapage à la pepsine a permis de visualiser les fibres polysaccharidiques dont on peut voir l'orientation. Un abondant mucilage (couche 4) soude cette hyphe avec ses voisines. Même technique et même légendes que fig. 15. x 42000.

Planche VII

Fig. 17: Structure tripartite du plasmalemme. Des corps de Woronin sont présents au voisinage du septum, ainsi que des ribosomes dans le cytoplasme. CW, corps de Woronin; Plm, plasmalemme; Ri, ribosomes; S, septum. KARNOVSKY, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Spurr. x 82500. — Fig. 18: **Hyphe de la couche gonidiale.** Comme beaucoup de membranes végétales, le plasmalemme des hyphes ainsi que ses différenciations sont spécifiquement colorés par l'acide phosphotungstique à bas pH. Lo, lomasomes; Pa H, paroi de l'hyphe; Plm, plasmalemme. Glutaraldéhyde-osmium, APT CLH (45'), Épon. x 90000. — Fig. 19: **Hyphe proche de la couche gonidiale.** Plusieurs constituants protoplasmiques sont mis en évidence: un profil de reticulum sur lequel sont attachés des ribosomes longe le plasmalemme; des ribosomes, dont beaucoup sont groupés et constituent des polyribosomes; une mitochondrie munie de crêtes internes; un globule lipidique. Noyau limité par une enveloppe nucléaire à double feuillet, et contenant un nucléole; sa chromatine est en partie condensée en amas, et en partie dispersée dans le nucléoplasme. Chc, chromatine condensée; Chd, chromatine dispersée; EN, enveloppe nucléaire; Gl. li., globule lipidique; Mi, mitochondrie; N, noyau; Nu, nucléole; Pri, polyribosome; RE, reticulum endoplasmique; Ri, ribosome. KARNOVSKY, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Épon, x 48000.

Planche VIII

Fig. 20: **Une hyphe de la couche gonidiale** dont le cytoplasme contient plusieurs mitochondries à crêtes allongées, une portion de vacuole, des ribosomes, dont la plupart sont groupés en polyribosomes, et un plasmalemme sinueux. Cr, crête; Mi, mitochondrie; Plm, plasmalemme; Pri, polyribosome; Va, vacuole. KARNOVSKY, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Épon. x 56000. — Fig. 21: Détail fortement grossi de la structure d'un corps de Woronin au voisinage d'un septum. Contrairement au globule lipidique, il présente un arrangement interne de particules (flèche). CW, corps de Woronin; Plm, plasmalemme; Ri, ribosome; S, septum. KARNOVSKY, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Spurr. x 165000. — Fig. 22 et fig. 23: Les corps de Woronin sont digérés par la pepsine (fig. 22, flèche) alors que sur la coupe témoin (fig. 23) ayant subi le même traitement, mais sans pepsine, ils conservent leur intégrité. CW, corps de Woronin; flèche indiquant l'emplacement des corps de Woronin qui ont été digérés; Ri, ribosome. KARNOVSKY, pepsine, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Épon. Fig. 22, x 36000; Fig. 23, témoin, x 28000.

Planche IX

Fig. 24: La technique de THIÉRY met en évidence des réserves de glycogène dans le cytoplasme de l'hyphe. Les particules β de 16 nm environ, sont groupées en amas, mais la disposition en rosette α est rarement atteinte; elle est tout au plus ébauchée (flèche). Gly, glycogène; Lo, lomasome; N, noyau; Pa H, paroi de l'hyphe; Plm, plasmalemme. Glutaraldéhyde-osmium, TCH 47 h., araldite x 40000. — Fig. 25: Appareil vacuolaire bien différencié d'une hyphe du bord du thalle, avec des précipités denses dans certaines vacuoles. Noter la présence de ribosomes et d'un corps concentrique isolé. CC, corps concen-

Source : MNHN, Paris

triques; PPV, précipité vacuolaire; Ri, ribosome; To, tonoplaste; Va, vacuole. KARNOVSKY, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Spurr. x 28000.

Planche X : Réactivité de l'appareil vacuolaire

Fig. 26 et 27: Résultat de l'incubation dans un milieu à la diaminobenzidine en présence d'H_2O_2 comme substrat. Beaucoup de vacuoles réagissent positivement. Les plus réactives sont les petites vacuoles arrondies contenant un précipité dense, comme celles de la jeune médulle ou de la couche gonidiale (fig. 27). L'appareil vacuolaire du cortex jeune évolue : la réaction est toujours positive, mais le précipité apparaît de plus en plus diffus (fig. 26). — Fig. 28: La réaction est également positive en l'absence de substrat: précipité vacuolaire dans une jeune hyphe médullaire de la marge du thalle. CC, corps concentrique ; N, noyau; PPV, précipité vacuolaire; Va, vacuole. Glutaraldéhyde-formaldéhyde, incubation (1h 30) dans le milieu à la diaminobenzidine, postosmiation-acétone, araldite. Pour le matériel de la figure 28, le milieu ne contenait pas d'eau oxygénée. Fig. 26, x 12000; Fig. 27 et 28, x 14000. — Fig. 29 et 30: Mise en évidence de l'activité phosphatasique acide dans les vacuoles. Un fin précipité de phosphate de plomb apparaît dans certaines vacuoles, ainsi que sur les mitochondries et sur les profils du reticulum endoplasmique. En l'absence de substrat, le précipité n'apparaît pas (fig. 30). Mi, mitochondrie; Re, reticulum endoplasmique; Va, vacuole. KARNOVSKY, incubation dans milieu de Gomori avec du β glycérophosphate comme substrat pour la fig.29 et sans substrat pour la fig. 30 (témoin). Fig. 29a, x 30000, 29b, x 20000; Fig 30a, x 27000, 30b, x 30000. Voir aussi fig. 36 et 37, pl. XII.

Planche XI : Les microvillosités

Fig. 31: *Peltigera canina*. Des microvillosités de forte amplitude augmentent considérablement la surface du plasmalemme des hyphes de la couche gonidiale. Une coupe tangentielle les met particulièrement bien en évidence. Vi, villosités; Fixation osmique, acétate d'uranyle-citrate de plomb, araldite, x 60000. — Fig. 32: *Lichina confinis*. Des villosités de moindre amplitude sont mises en évidence par le test de THIÉRY (flèche). Glutaraldéhyde-osmium, TCH (2h.), x 20000. — Fig. 33: *Parmelia fuliginosa*, à gonidies chlorophycées du g. *Trebouxia* : cellule d'isidie. Le plasmalemme envoie dans le cytoplasme des replis allongés et étroits en forme de doigt de gant. Mi, mitochondrie ; N, noyau; Vi, villosité. Même technique que pour fig. 32, x 36000.

Planche XII: Figure mésosomienne et vacuoles «autophagiques»

Fig. 34, 35 et 38: Le test de THIÉRY révèle que la structure mésosomienne est chargée de polysaccharides. Les structures lamellaires y sont plus fréquentes que les structures vésiculaires. Une vacuole que nous interprétons comme vacuole «autophagique» ou lysosome secondaire (L S) encercle régulièrement cette formation. Une inclusion granuleuse, vraisemblablement un phytolysosome primaire (L I) accompagne souvent la vacuole autophagique. Le cytoplasme avoisinant est riche en glycogène et contient de nombreuses mitochondries. Ce processus se déroule dans les hyphes en contact étroit avec les gonidies. G, gonidie; Gly, glycogène; L S, lysosome secondaire ou vacuole autophagique; Mé, figure mésosomienne; Mi, mitochondrie; N, noyau; Pa H, paroi de l'hyphe; Plm, plasmalemme. Glutaraldéhyde-osmium, TCH 3h, Spurr, fig. 34, x 44000; fig. 35 et 38, x 20000. — Fig. 36 et 37: Réactivité des vacuoles autophagiques (L S) au test de mise en évidence des phosphatases acides selon Gomori. Le précipité qui traduit une réaction positive est tantôt très fin et régulièrement réparti dans la vacuole (fig. 37), tantôt plus grossier et localisé le long du tonoplaste, fig. 36. KARNOVSKY, milieu de Gomori. Pour le témoin, voir fig. 30, pl. X.

Source : MNHN, Paris

Planche XIII : Les corps concentriques

Fig. 39: Groupe de corps concentriques dans une hyphe de la couche gonidiale. L'un d'entre eux, coupé transversalement, montre les quatre zones concentriques qui le constituent, ainsi que les membranes tripartites qui traversent ces quatre couches de part en part et se dispersent dans le cytoplasme. CC, corps concentrique; 1, 2, 3 et 4, couches constituant le corps concentrique; Gl, globule lipidique; mb, membrane rayonnante du corps concentrique; Ri, ribosome; Vi, villosité du plasmalemme. KARNOVSKY, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Épon, x 83250.

Planche XIV

Fig. 40: Hyphe de la marge du thalle montrant une concentration exceptionnelle de corps concentriques. CC, corps concentrique. Os O_4, acétate d'uranyle-citrate de plomb, araldite. x 12000. — Fig. 41: Coupe transversale d'un corps concentrique fortement grossi, mettant en évidence sa structure, avec le «coeur», les couches 2, 3, 4, et le halo Ha, ainsi que le système lamellaire qui, partant de la couche 2, traverse l'ensemble de la structure jusqu'au halo (flèches). KARNOVSKY, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Épon. x 200000. — Fig. 42: Coupe transversale et coupe tangentielle d'un corps concentrique. La coupe tangentielle passe par le halo (Tg Ha), les trois flèches triangulaires indiquent les trois directions dans lesquelles sont resserrées les lamelles. Os O_4, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Épon. x 102000.

Planche XV

Fig. 43: Deux coupes transversales de corps concentriques montrent que le système lamellaire traverse la couche 2 et lui donne un aspect strié radialement (flèche simple). Les flèches pennées indiquent ces mêmes lamelles au niveau de la couche 4. — Fig. 44 et 45: Corps concentriques coupés à différents niveaux. La coupe tangentielle qui atteint la couche 2 (Tg2) montre à son niveau de fines réticulations. La flèche pennée indique les lamelles tripartites traversant la couche 3. Au niveau de la couche 4 (Tg 4), le système lamellaire est resserré selon deux directions (flèches triangulaires), Ha, halo. Pour les trois figures, fixation: glutaraldéhyde-paraformaldéhyde, acétate d'uranyle-citrate de plomb, Épon selon Spurr. x 100000.

Planche XVI

Fig. 46 et 47: Nombreuses coupes tangentielles ou transversales de corps concentriques en fixation osmique. Le système lamellaire est bien mis en évidence, et il paraît en continu d'un organite à l'autre. Des anastomoses entre les lamelles sont visibles sur les coupes tangentielles passant par la couche 3 (Tg 3). Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Fig. 46, x 90000, fig. 47, x 102000.

Planche XVII :
Relation entre des corps concentriques et des faisceaux de microtubules

Fig. 48 et 49: Faisceaux de microtubules qui s'incurvent à une de leurs extrémités pour rencontrer le système lamellaire des corps concentriques (flèche pennée). — Fig. 50 et 51: Coupe transversale et longitudinale de ces mêmes microtubules (flèche simple). Ils sont peut-être reliés entre eux par des fibrilles protéiques. Glutaraldéhyde-osmium, triple coloration selon SOLOFF. Fig. 48, x 45000; Fig. 49, x 100000; Fig. 50, x 60000; Fig. 51, x 78000.

Source : MNHN, Paris

Planche XVIII

Fig. 52 et 53: Coupe ayant subi une digestion enzymatique à la pepsine, et son témoin. Les corps concentriques de la figure 52 sont partiellement digérés. Glutaraldéhyde-osmium, acétate d'uranyle-citrate de plomb. x 52000. — Fig. 54 et 55: Coupe ayant subi une digestion enzymatique à la pronase et son témoin. L'hydrolyse du corps concentrique (figure 54) est plus complète. Glutaraldéhyde-paraformaldéhyde-osmium; acétate d'uranyle-citrate de plomb. x 52000. — Fig. 56: Faisceaux de microtubules en coupes transversales ou obliques, qui semblent converger vers une structure en rapport avec le plasmalemme (double flèche). N, noyau. Glutaraldéhyde-osmium, triple coloration selon SOLOFF. x 48000.

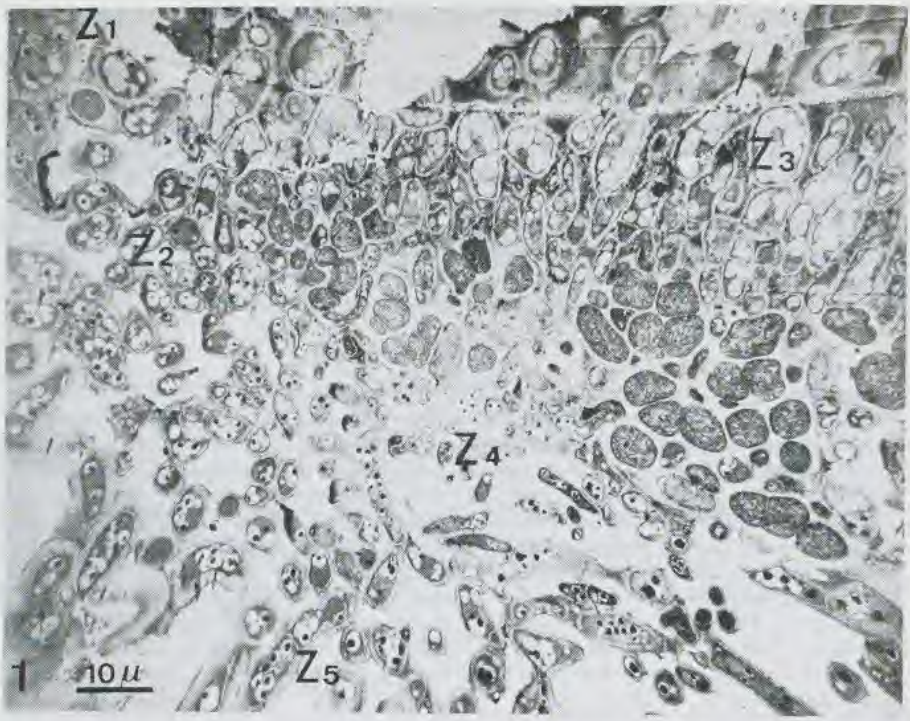
Planche XIX

Fig. 57: Chez le *Parmelia fuliginosa*, la technique de THIÉRY révèle que les replis profonds du plasmalemme ont la même réactivité que celui-ci, alors que les lamelles des corps concentriques ne réagissent pas à ce test (voir aussi figure 33, planche XI). Glutaraldéhyde-osmium, TCH (28h.). x 24000. — Fig. 58: L'intrusion d'une hyphe intramycélienne (HI) a bousculé et déchiré le septum de l'hyphe hôte dont les débris ont été plaqués contre sa paroi. Coupe longitudinale de rhizine, l'hyphe intrusive provenait du thalle (haut de la photographie). Glutaraldéhyde-osmium, TCH (3h). x 10000. — Fig. 59: Quelques hyphes intramycéliennes (HI) dans la médulle d'un thalle différencié. Le cytoplasme des hyphes hôtes est profondément altéré. Glutaraldéhyde-osmium, triple coloration selon SOLOFF. x 4400. — Fig. 60: Exemple rare de l'intrusion (ou d'une sortie?) latérale d'une hyphe intramycélienne dont l'hyphe hôte fait partie de la médulle. Osmium, acétate d'uranyle-citrate de plomb. x 19600.

Planche XX : Relation entre les symbiontes

Fig. 61 et 62: Si le *Peltigera canina* ne présente pas de véritables haustoriums, certaines hyphes (H) endommagent sérieusement les gonidies (G). La paroi de celles-ci semble suffisamment souple pour ne pas se rompre sous la poussée exercée par le phycobionte et leur cytoplasme ne présente pas d'altération tant qu'une profonde pénétration n'est pas réalisée. La figure 61 représente un matériel qui a été incubé dans le milieu de WACHSTEIN et MEISEL selon une technique précédemment décrite: un dépôt de phosphate de plomb est visible au niveau du plasmalemme de la gonidie en contact avec le mycobionte. Ce dépôt traduit l'existence d'une activité adénosine-triphosphatasique neutre. Noter les nombreuses vésicules (v) issues de la paroi de la gonidie (BOISSIERE M.C., 1973, fig. 3; pl. II). x 36000. — Fig. 62: Glutaraldéhyde paraformaldéhyde-osmium, acétate d'uranyle citrate de plomb. x 12000.

Source : MNHN, Paris



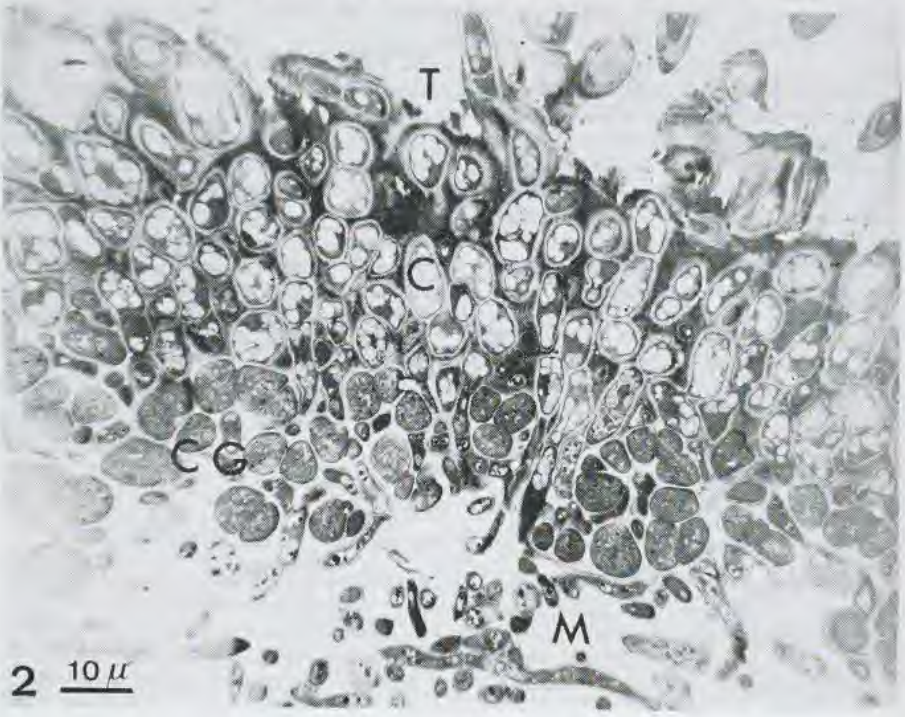


Planche I

Source : MNHN, Paris

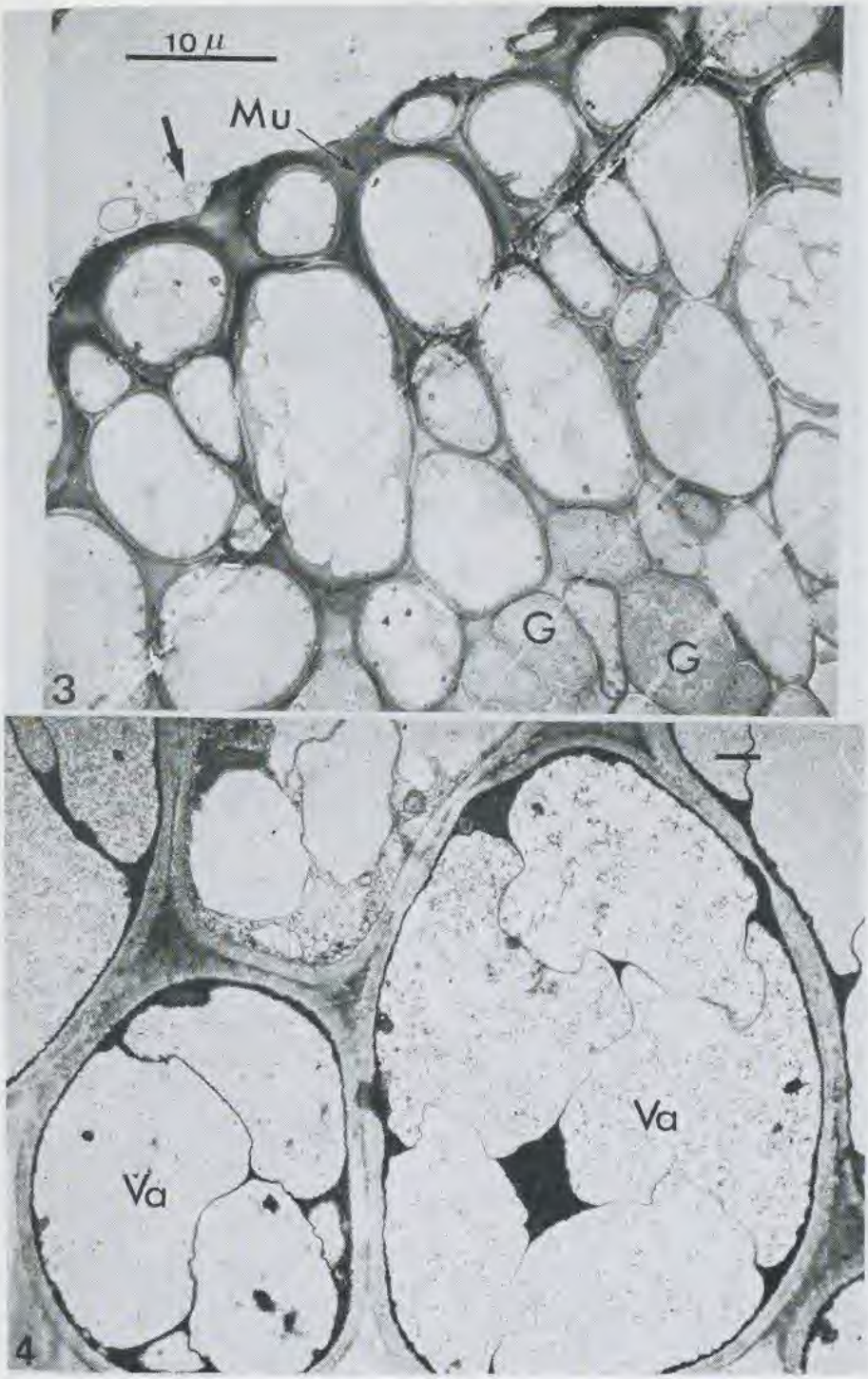


Planche II

Source : MNHN, Paris

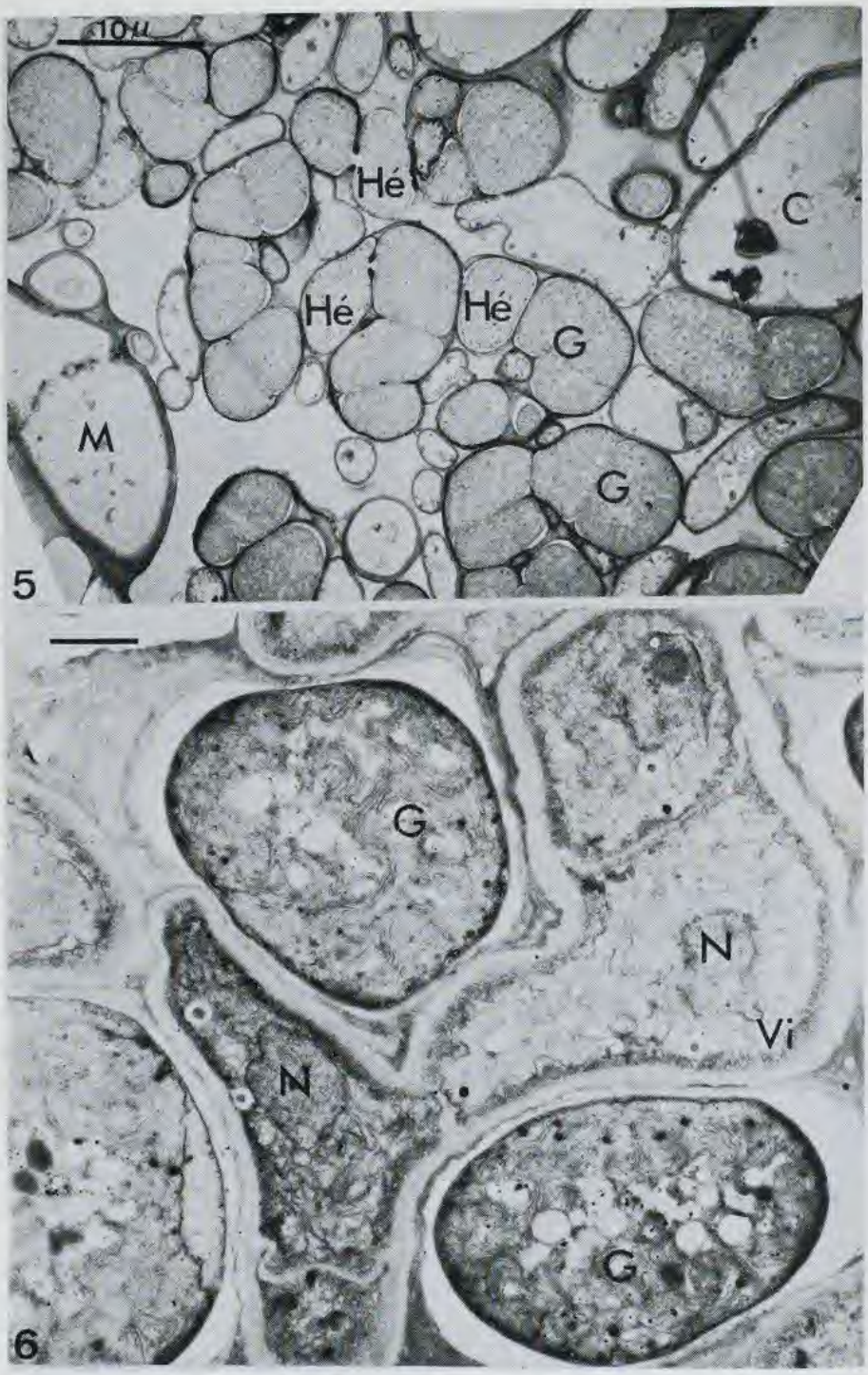


Planche III

Source : MNHN, Paris

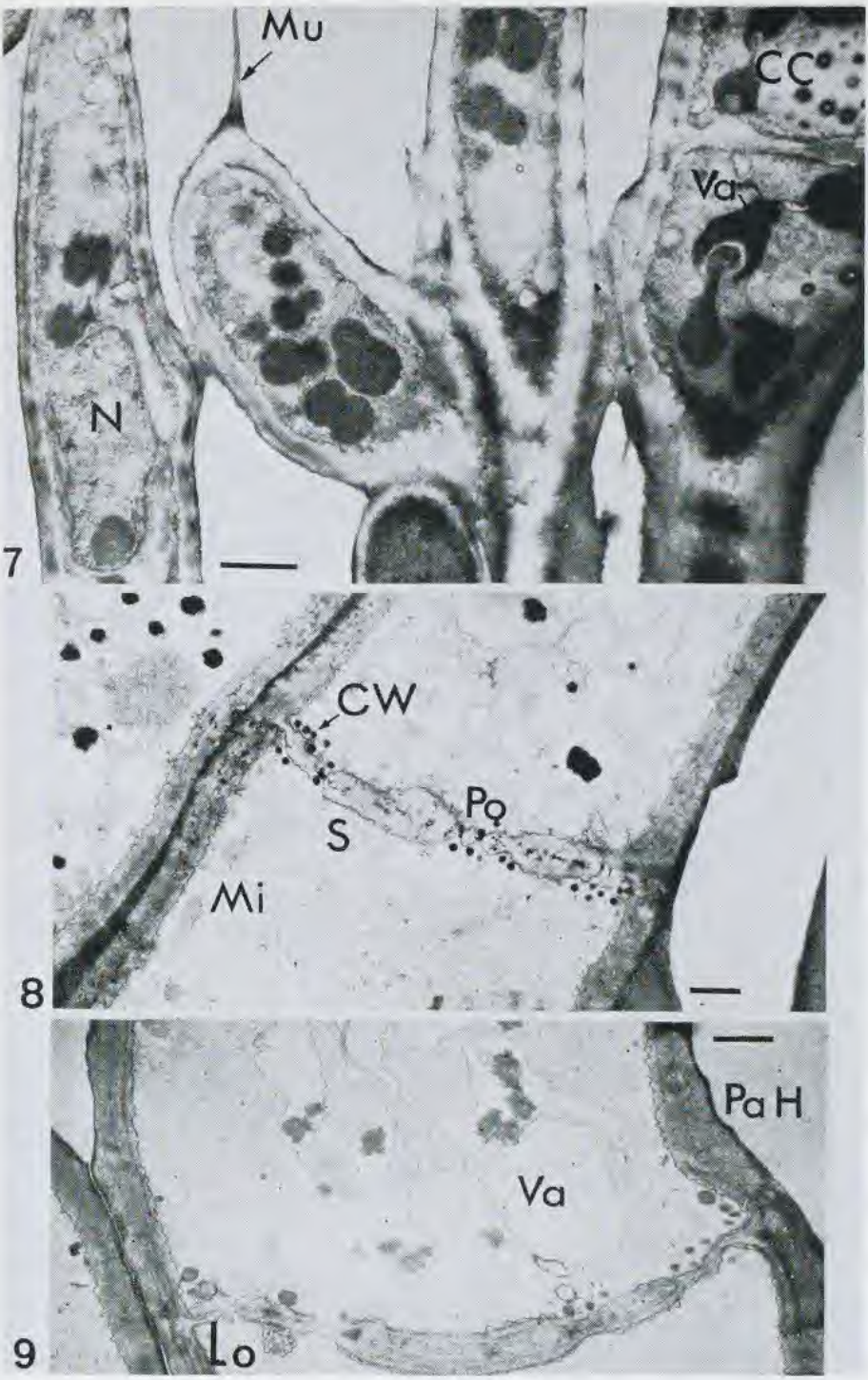


Planche IV

Source : MNHN, Paris

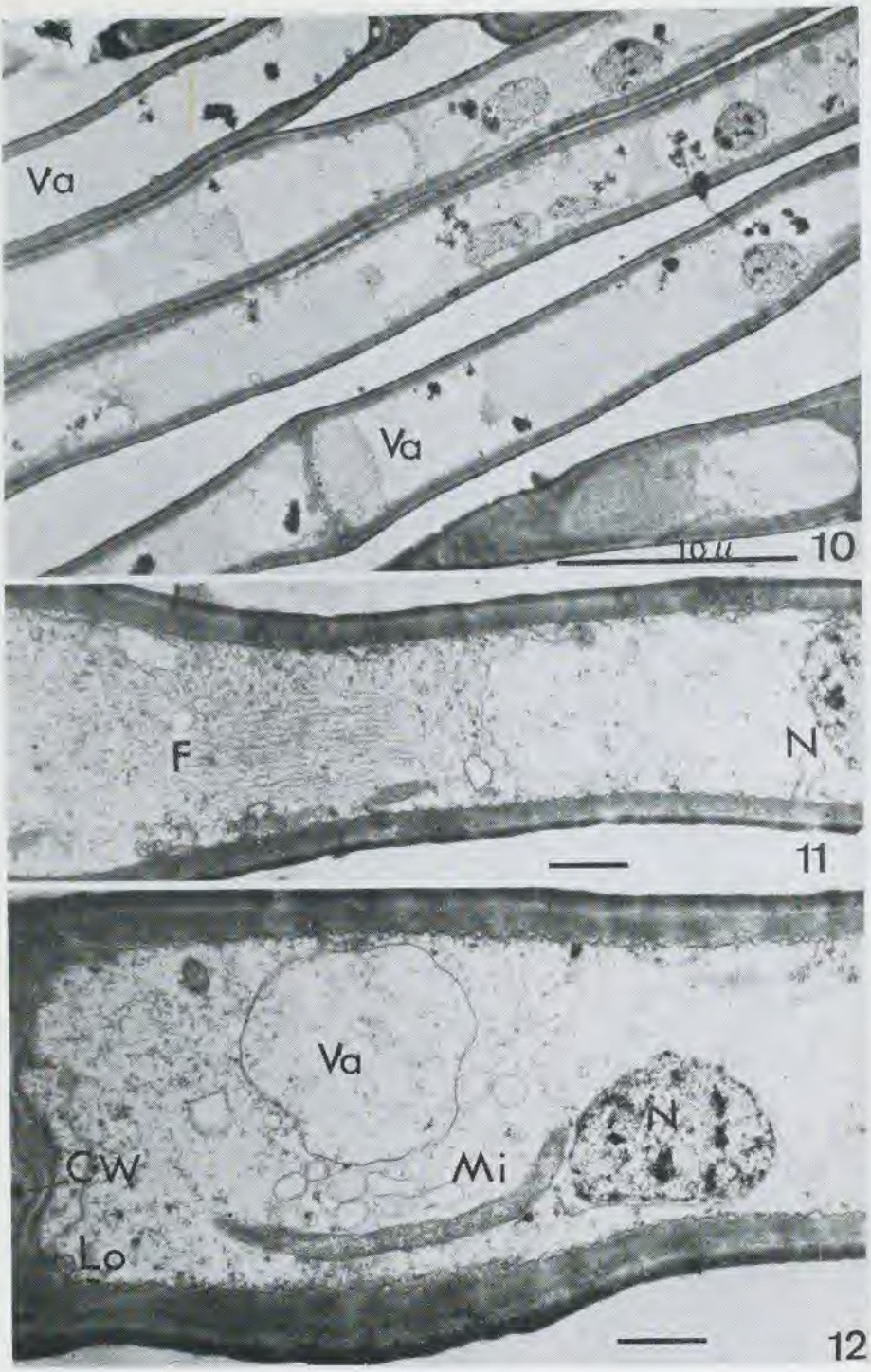


Planche V

Source : MNHN, Paris

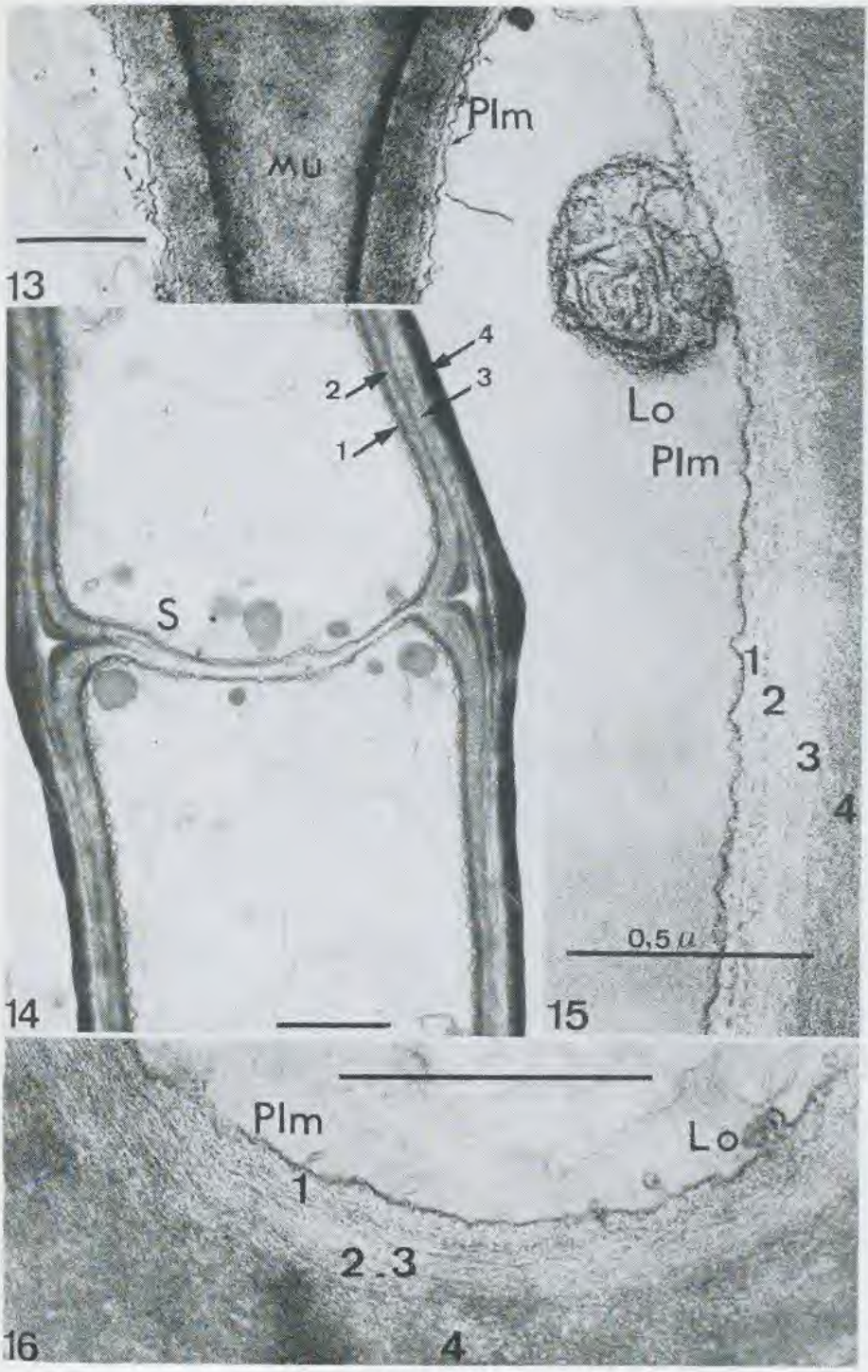


Planche VI

Source : MNHN, Paris

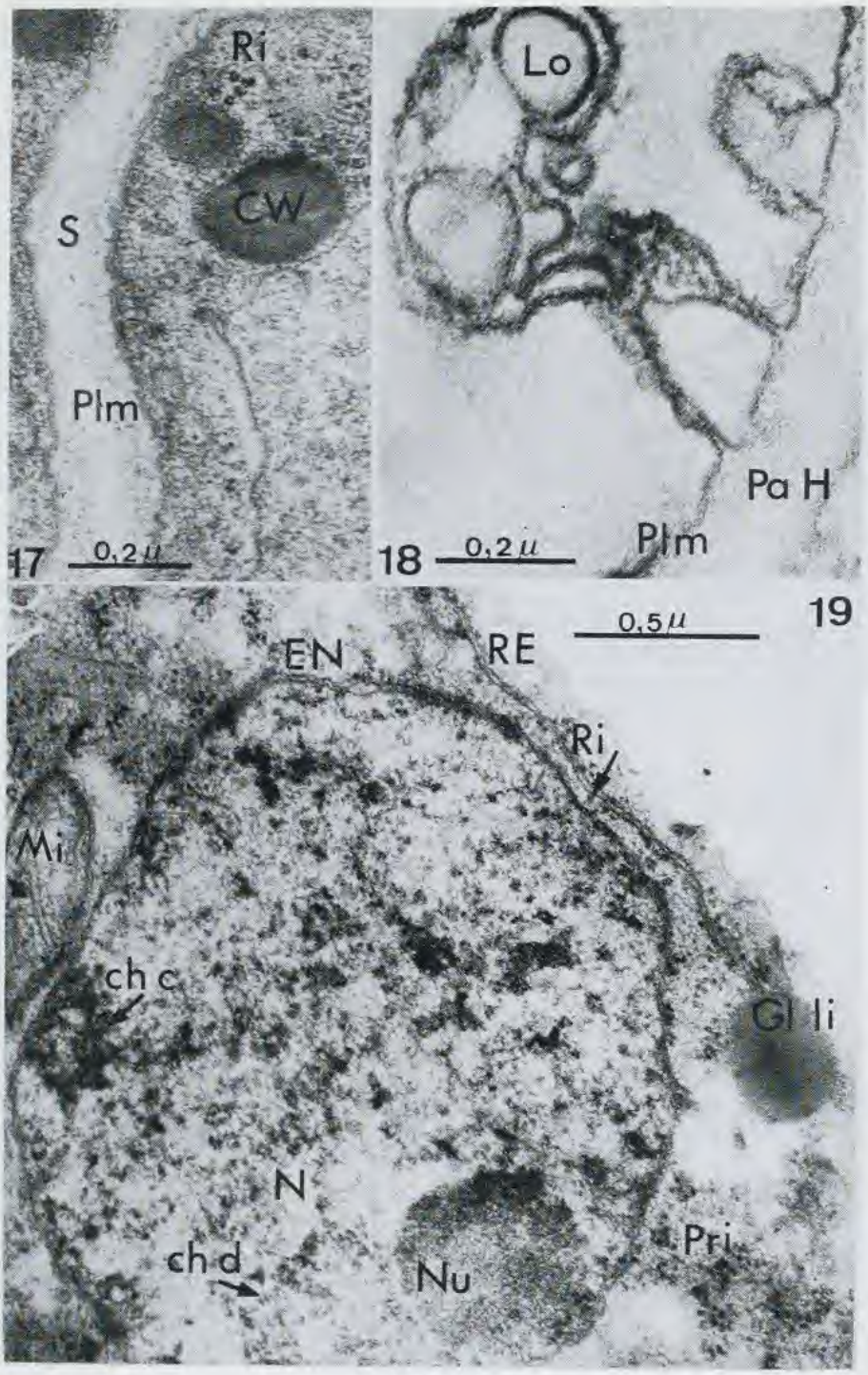


Planche VII

Source : MNHN, Paris

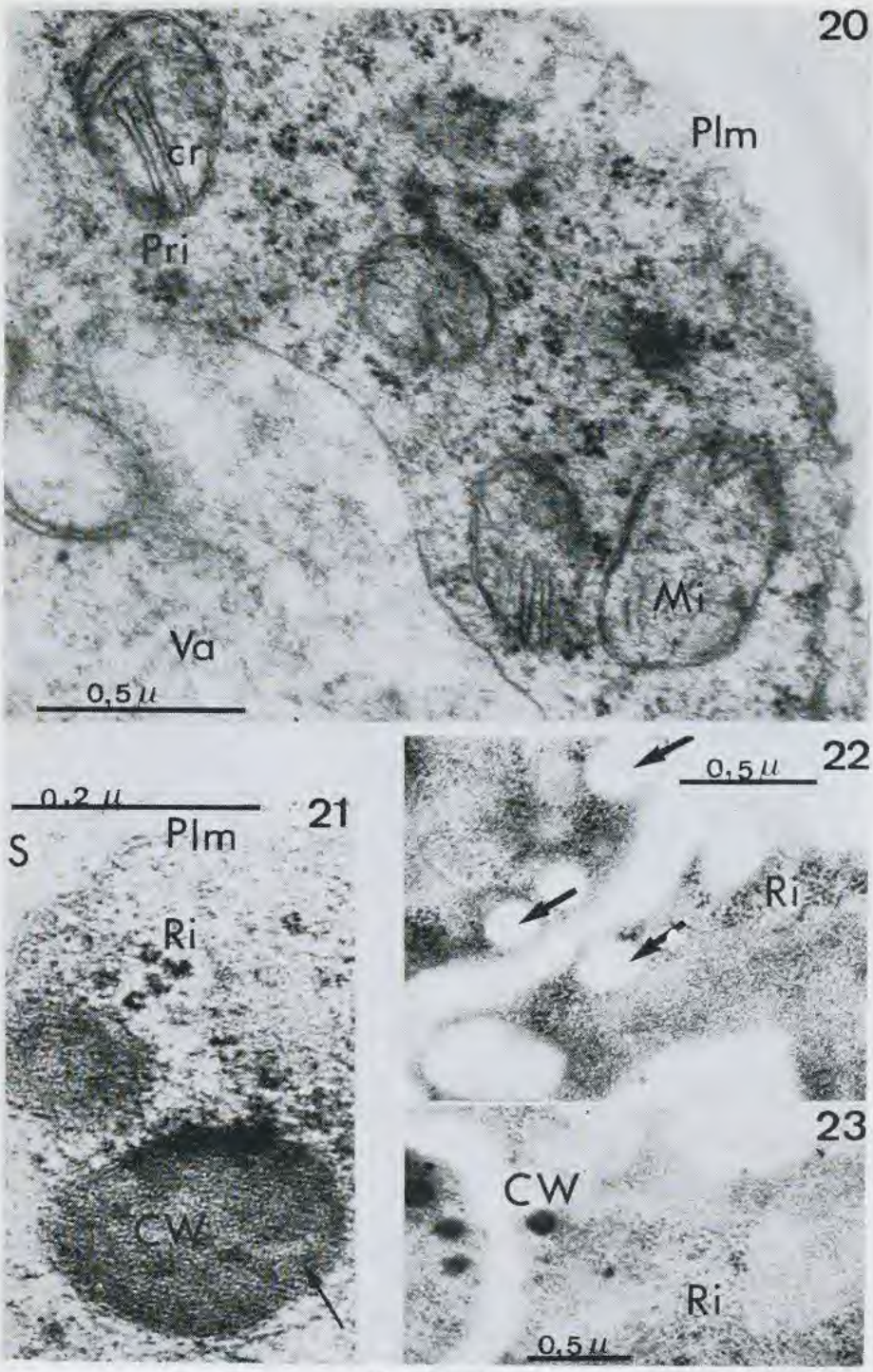
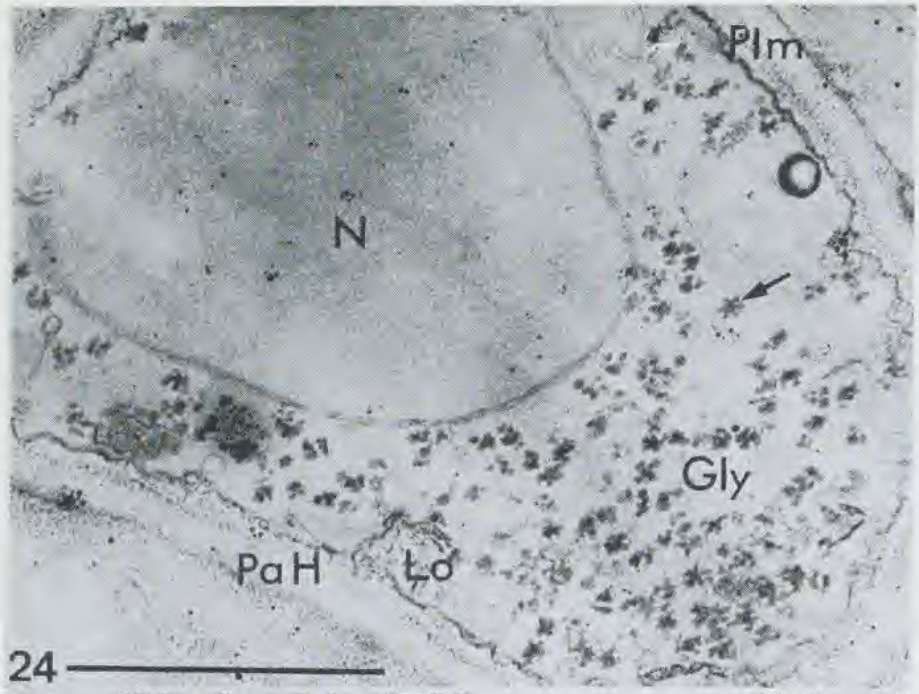


Planche VIII

Source : MNHN, Paris



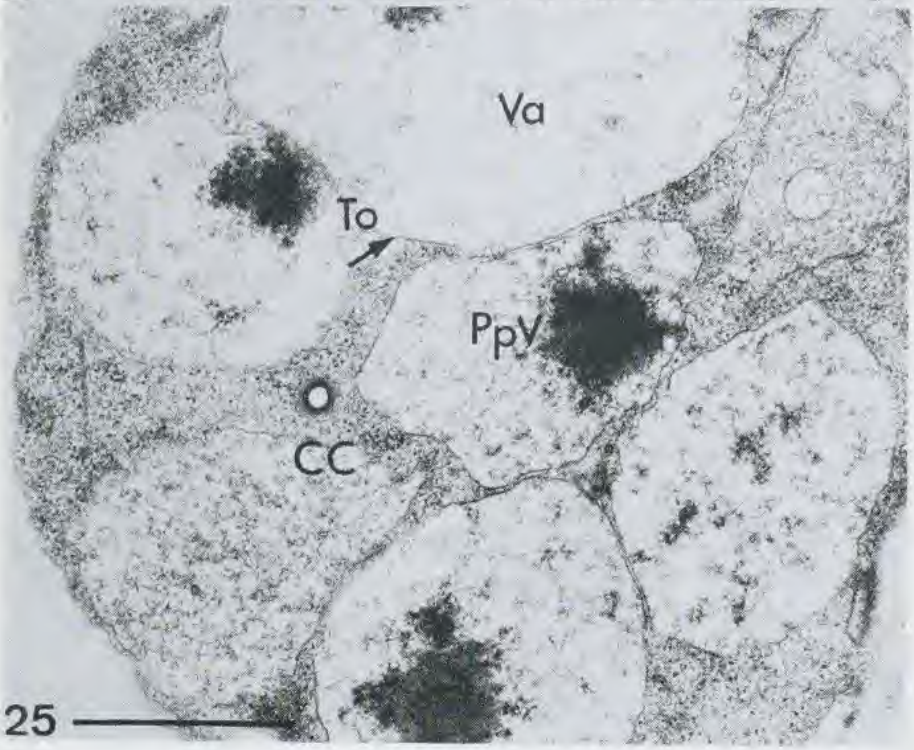


Planche IX

Source : MNHN, Paris

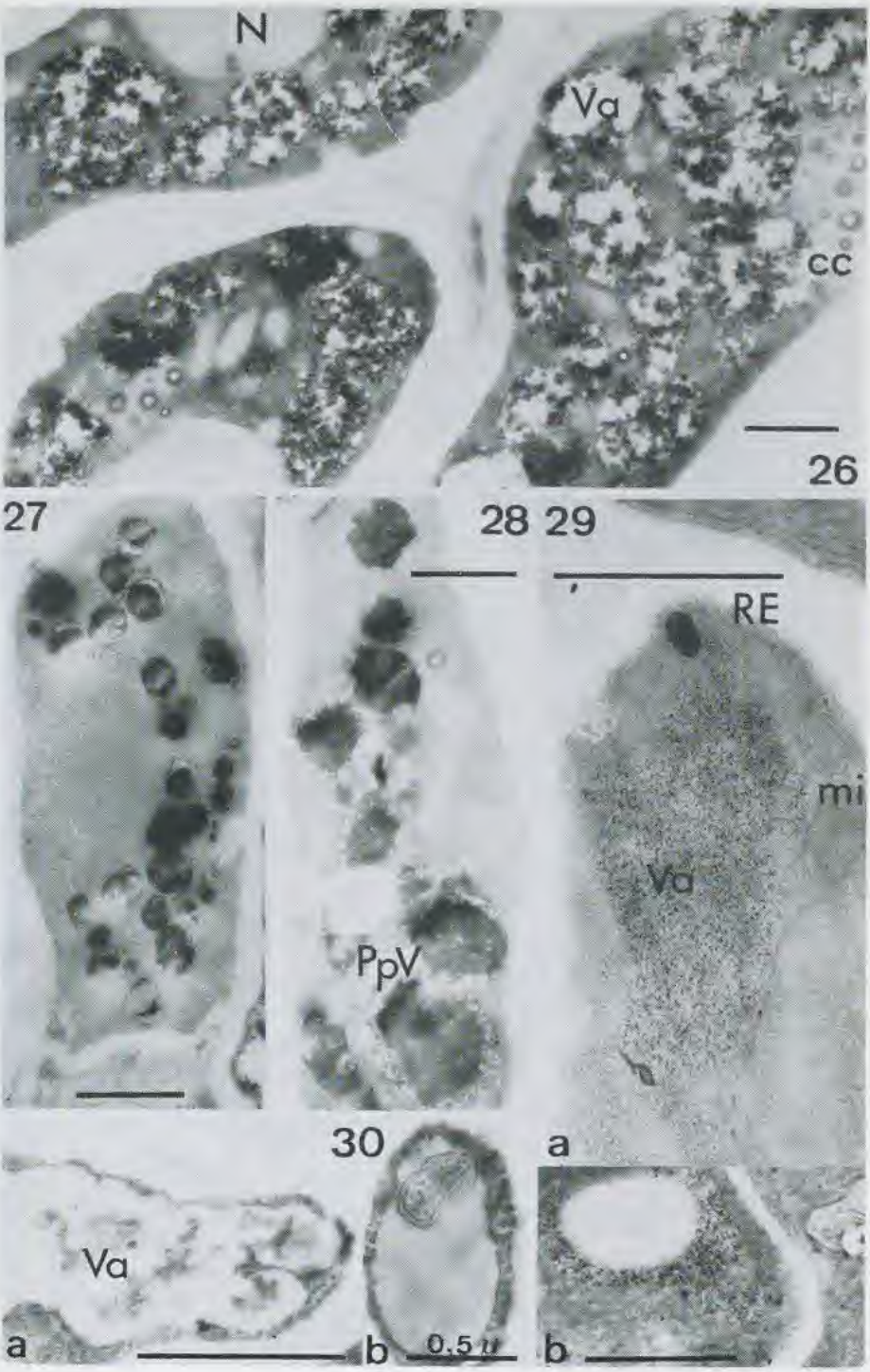


Planche X

Source : MNHN, Paris

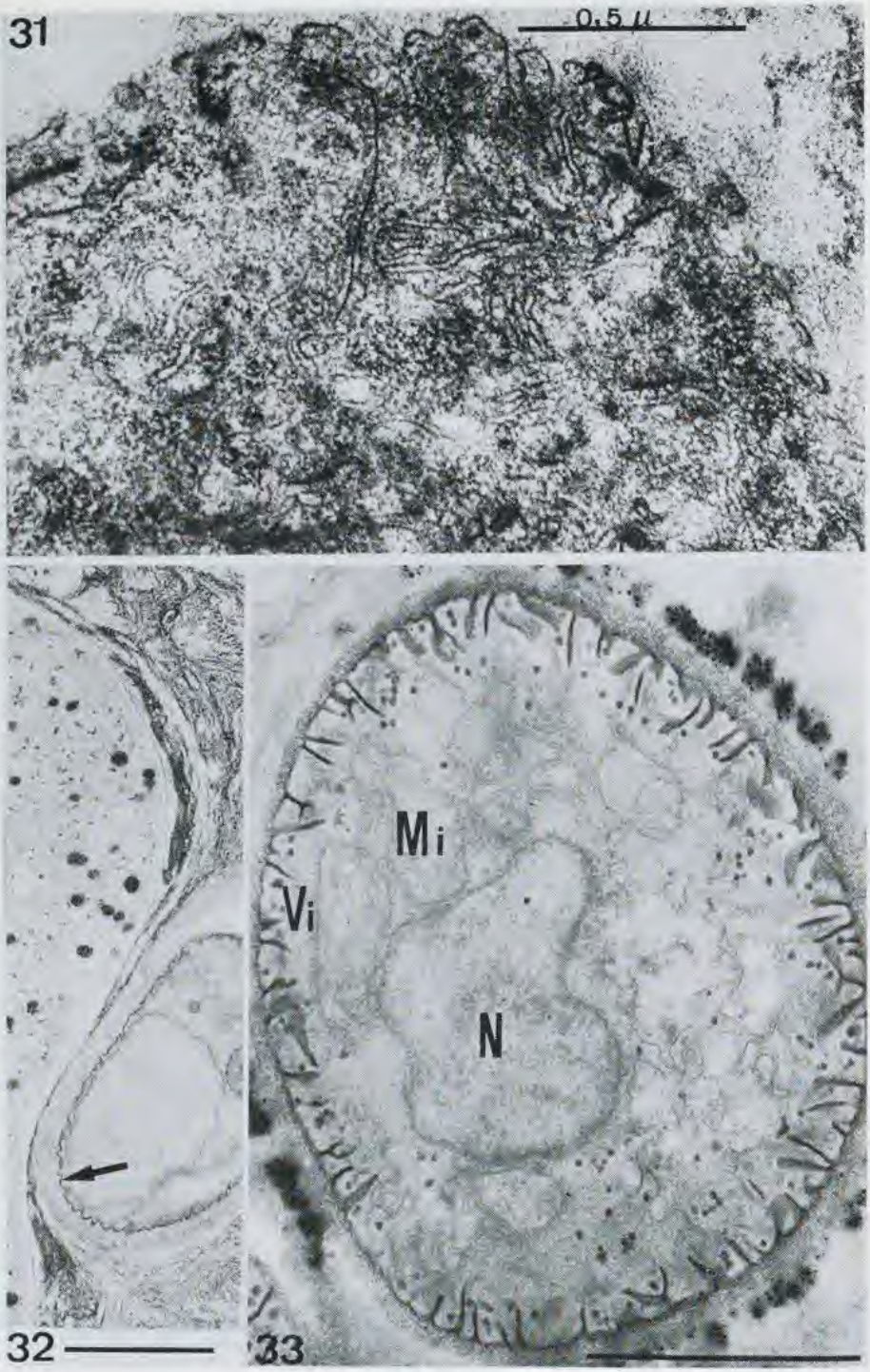


Planche XI

Source : MNHN, Paris

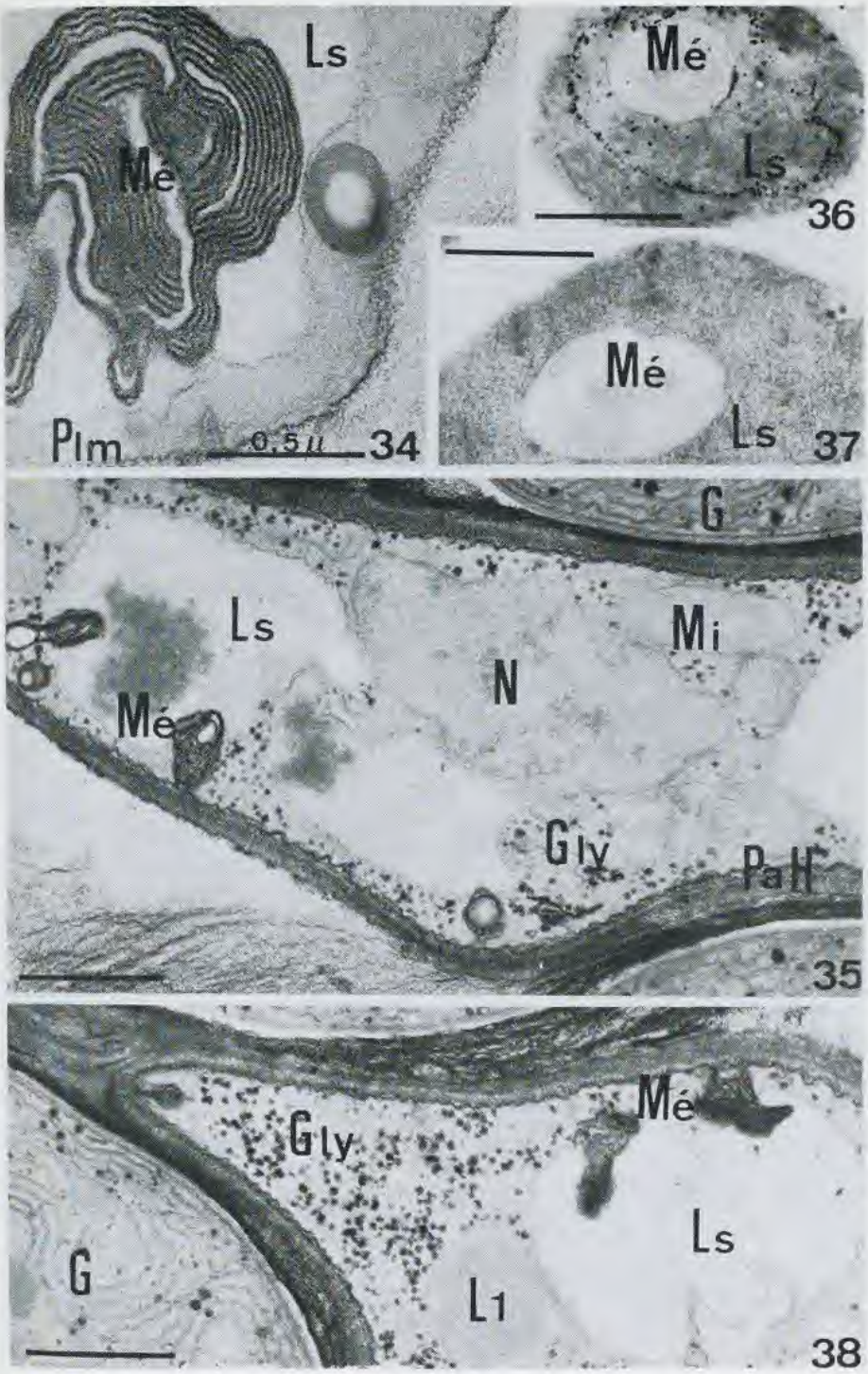


Planche XII

Source : MNHN, Paris

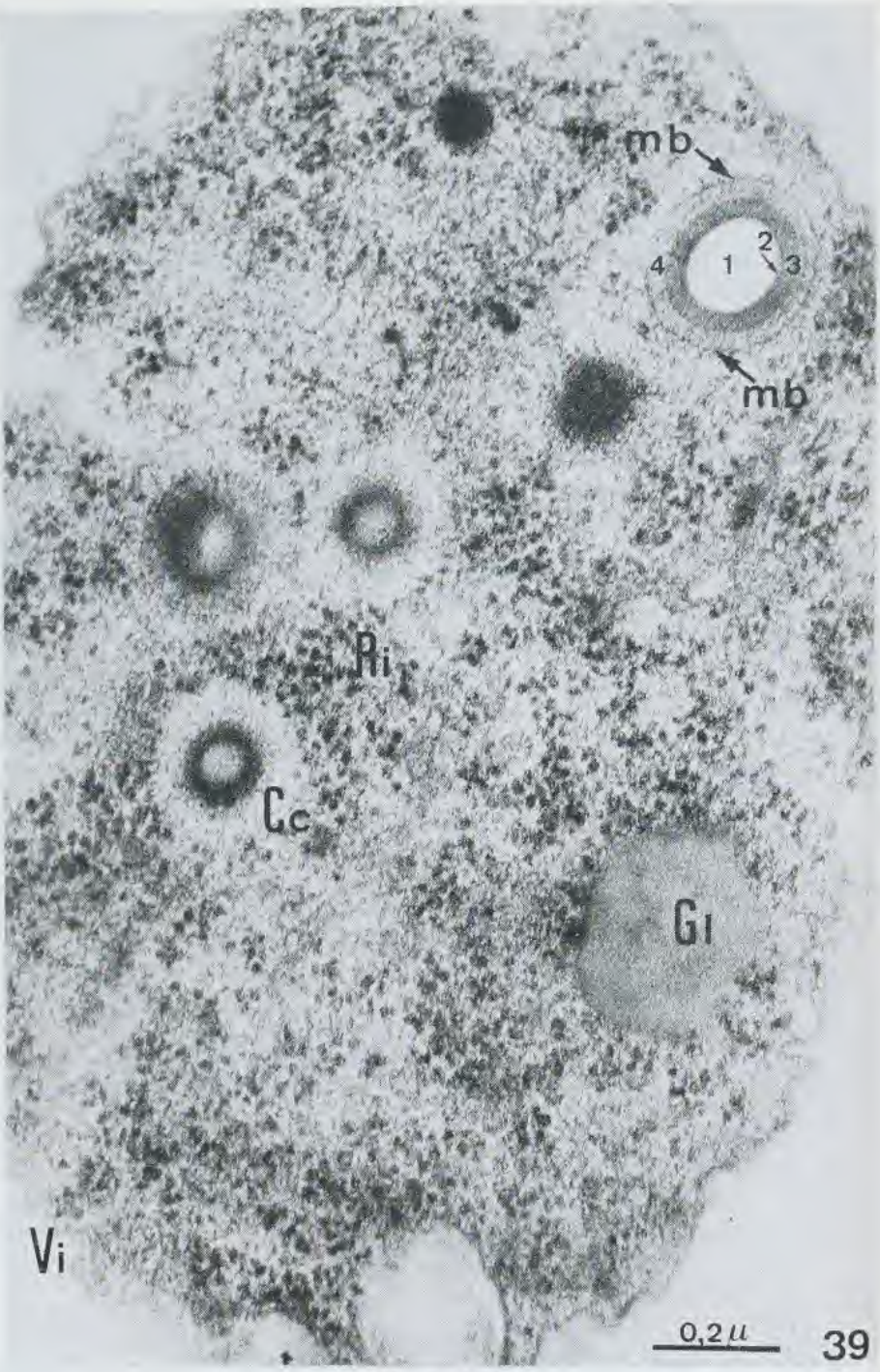
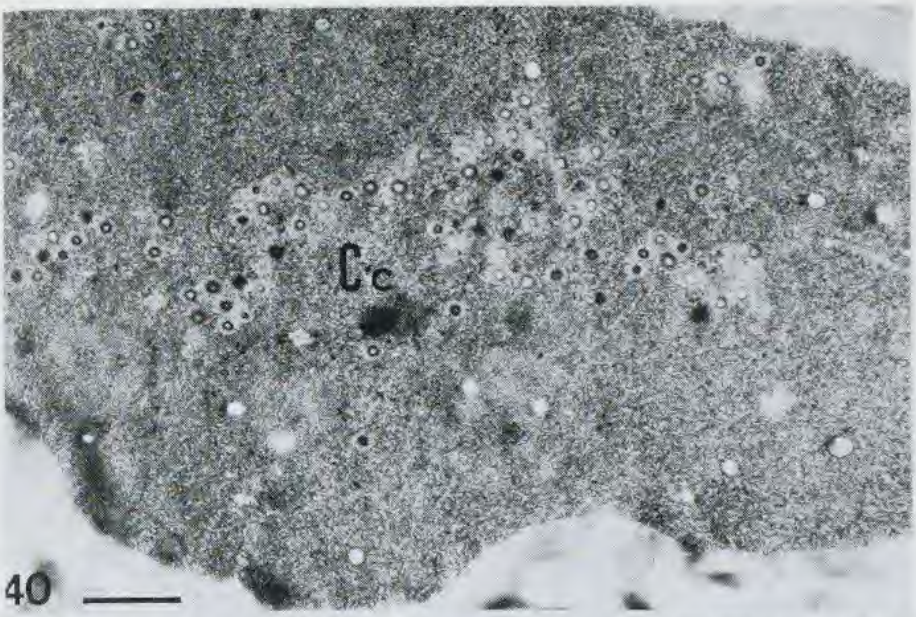


Planche XIII

Source : MNHN, Paris



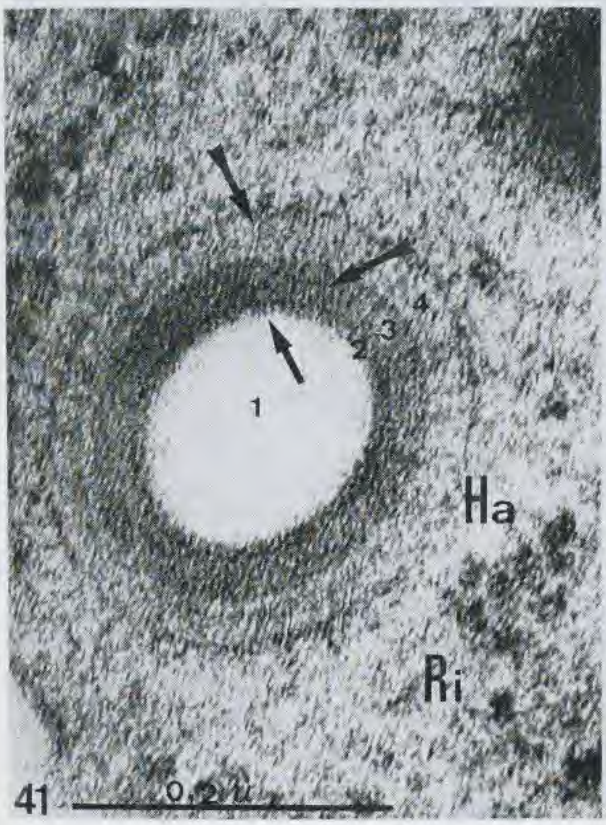
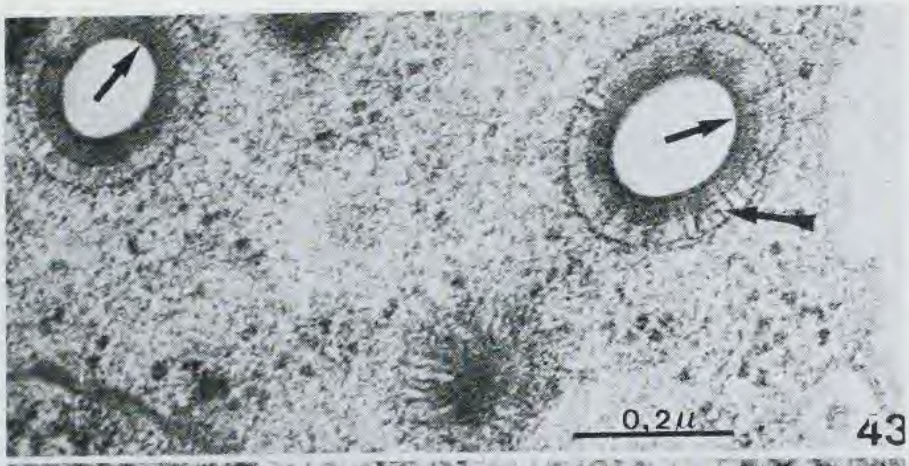
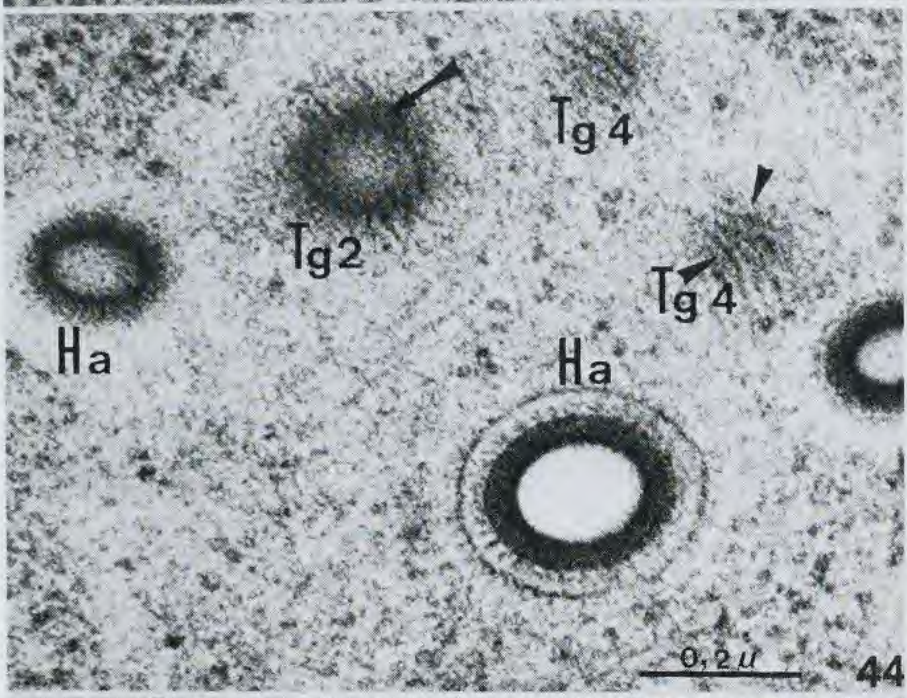


Planche XIV

Source : MNHN, Paris





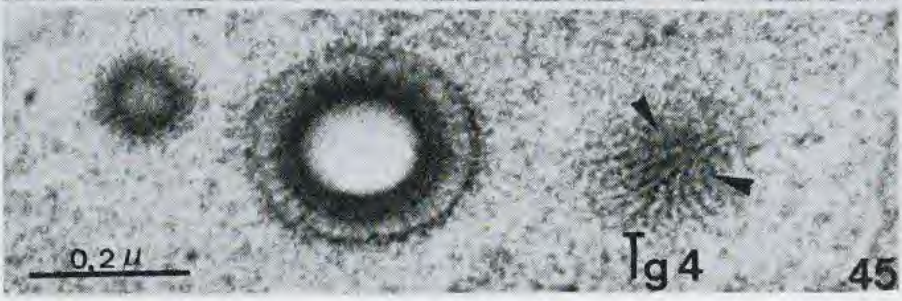
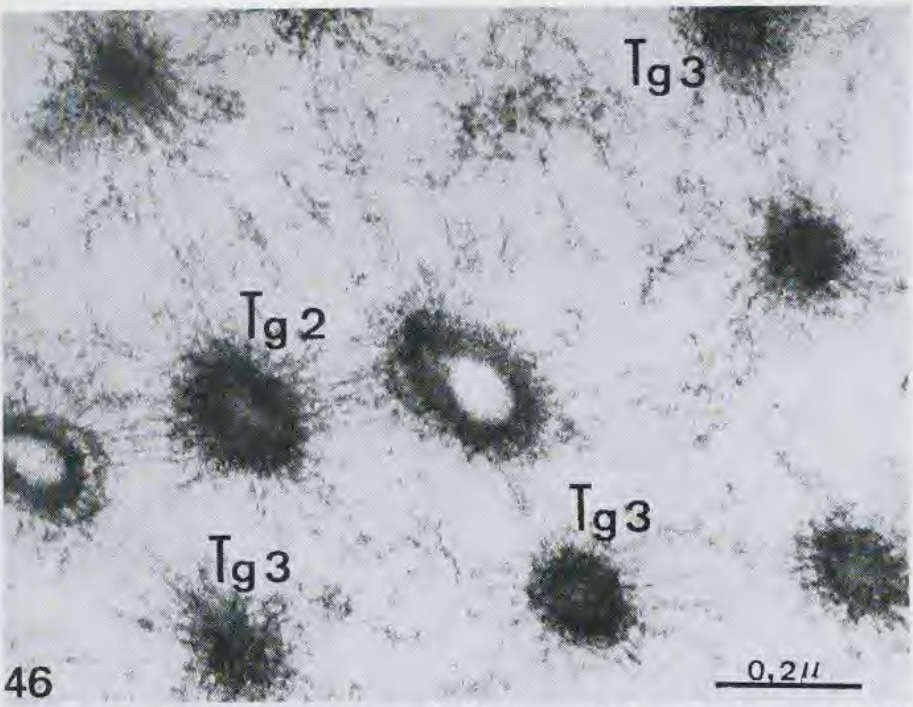


Planche XV

Source : MNHN, Paris



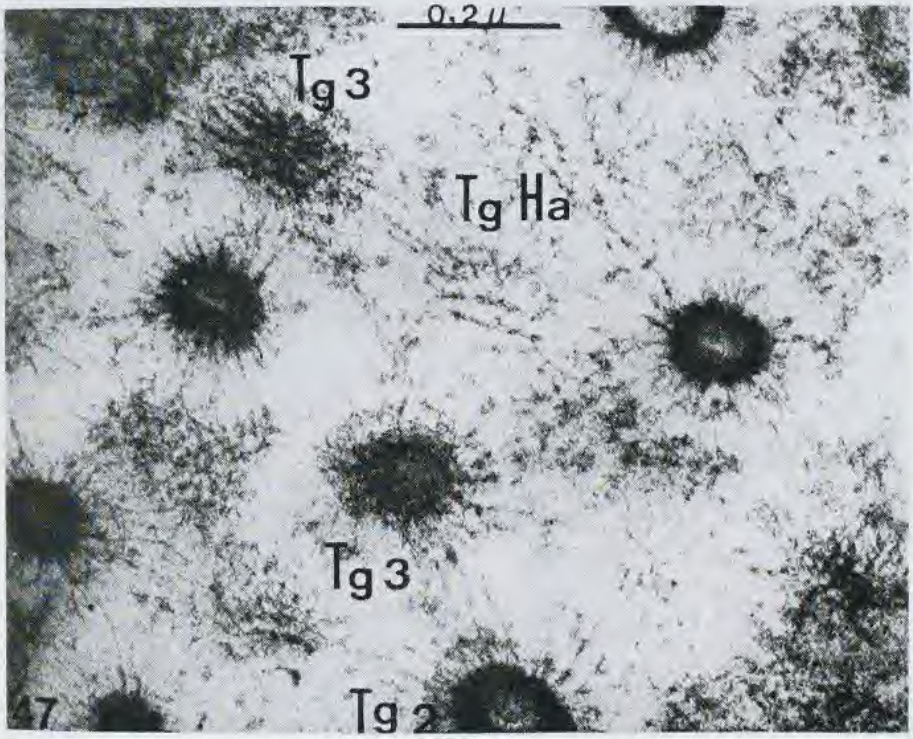


Planche XVI

Source : MNHN, Paris

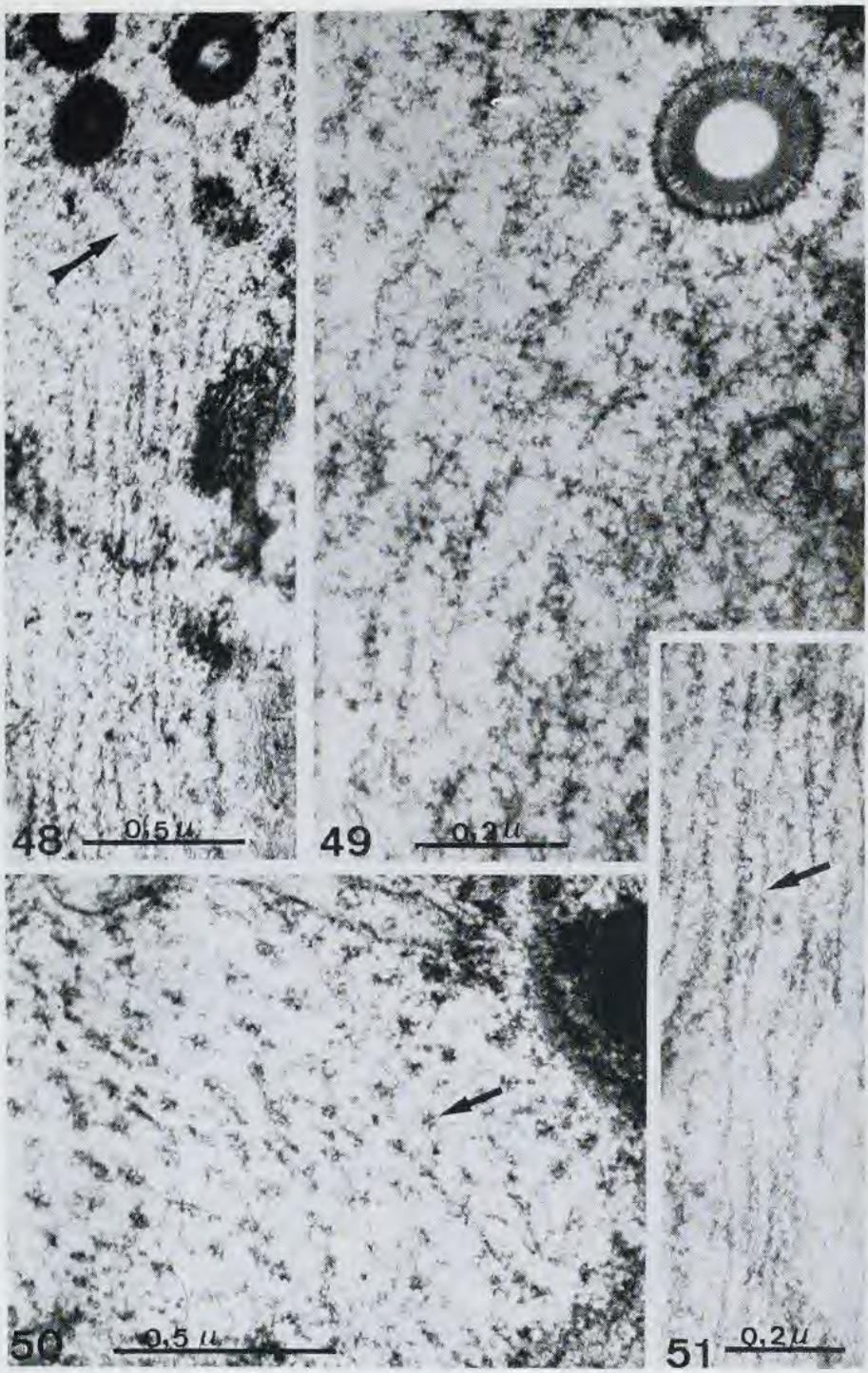
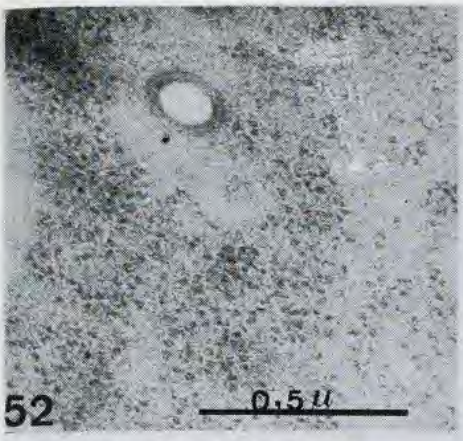
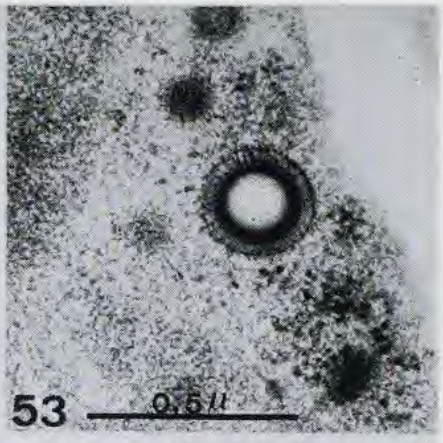
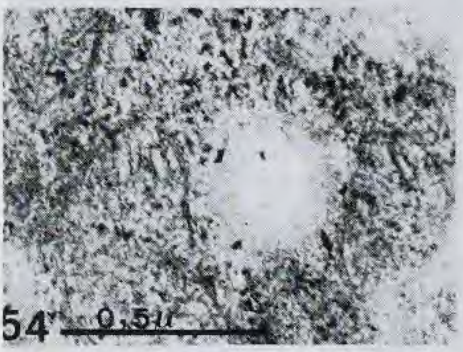


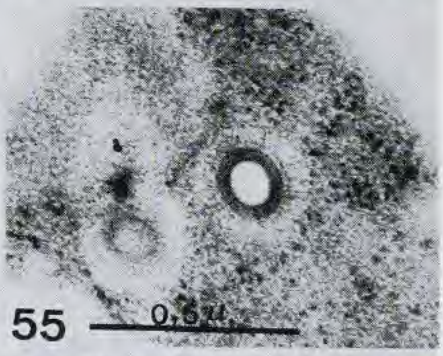
Planche XVII

Source : MNHN, Paris









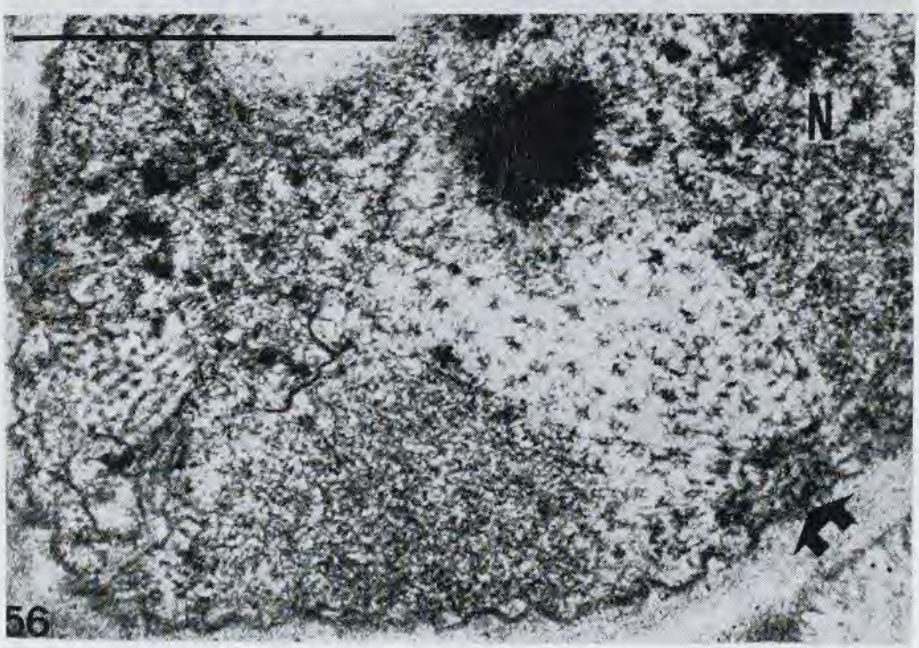


Planche XVIII

Source : MNHN, Paris

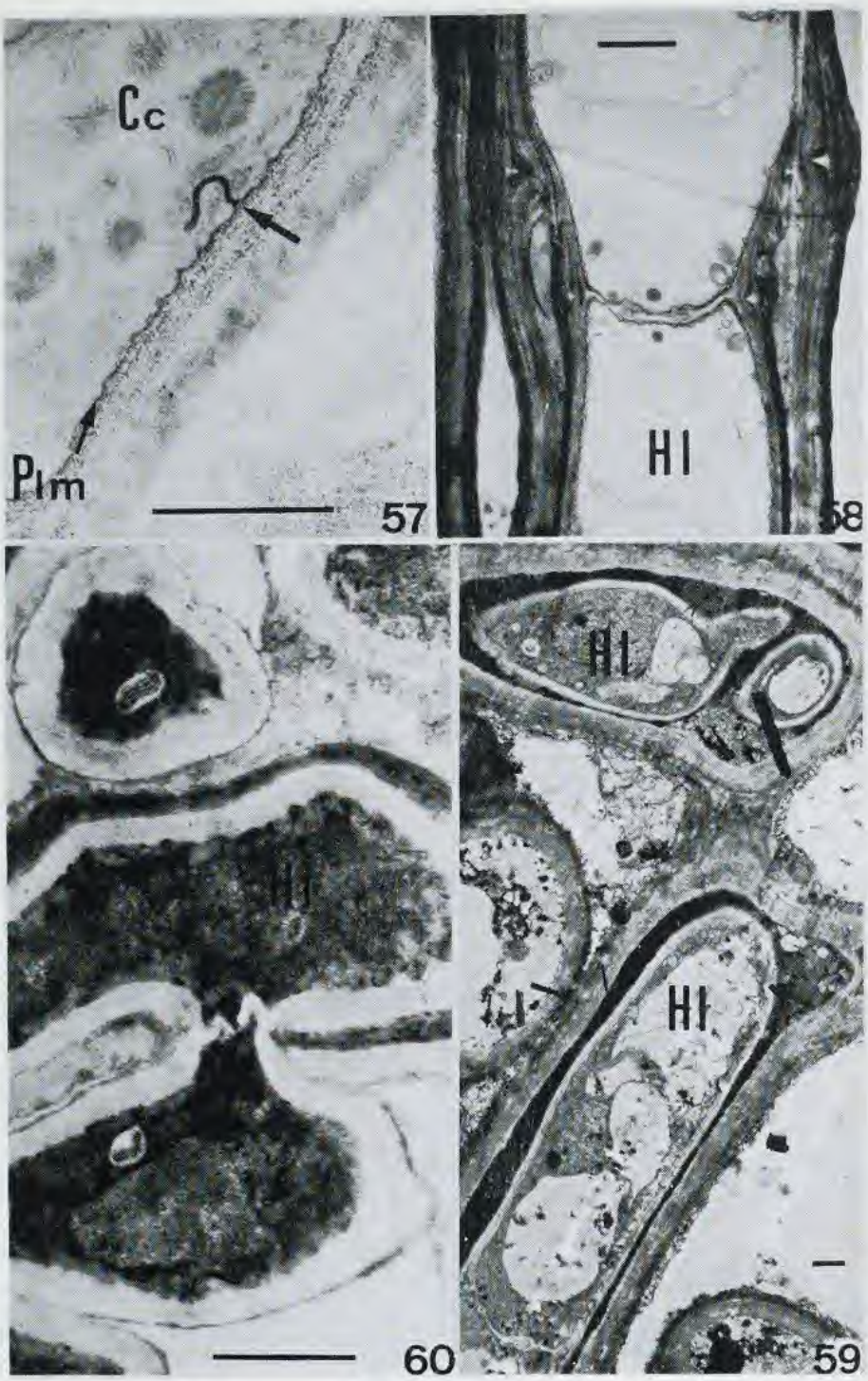


Planche XIX

Source : MNHN, Paris

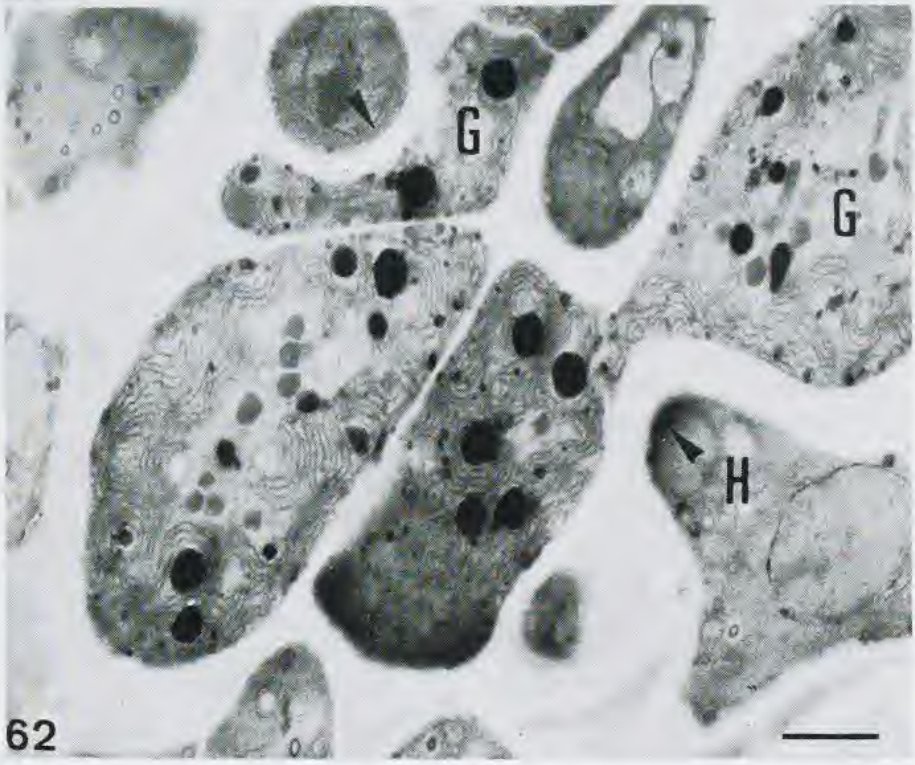


Planche XX

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

DESERTELLA,

UN NOUVEAU GENRE D'HYPHOMYCETE DE SOLS ARIDES

J. MOUCHACCA *

RÉSUMÉ. — Un nouveau genre d'Hyphomycète mucédiné non pléomorphe isolé de sol aride d'Égypte, le genre *Desertella* avec comme espèce type le *D. globulifera*, est décrit et illustré. Il se distingue des entités génériques monoblastiques connues par l'absence de conidiophore différencié et par ses larges conidies unicellulaires, jaune-brunâtres et verruqueuses.

ABSTRACT. — A new non pleomorphic mucedinaceous form-genus, isolated from Egyptian desert soil, the genus *Desertella*, type species *D. globulifera*, is described and illustrated. It differs from known monoblastic hyphomycetous genera by the absence of conidiophores and the production of large continuous yellow brown warty conidia.

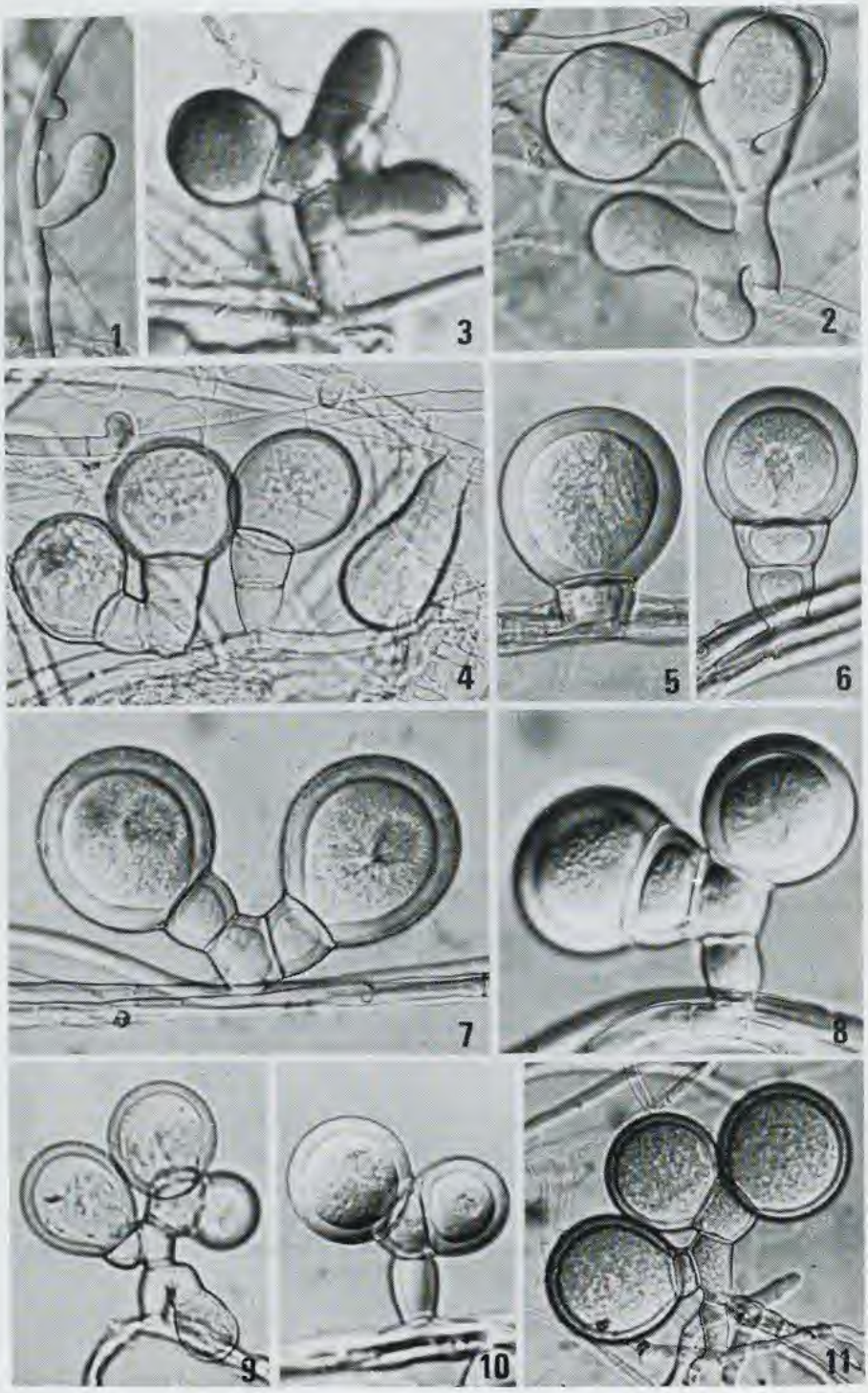
L'étude des populations mycotelluriques de quelques régions désertiques ou semi-arides de l'Égypte nous a fourni un certain nombre de cultures de champignons inédits pour la Science. Certains de ces micromycètes ont fait l'objet de publications antérieures (MOUCHACCA 1973, 1975, 1977; MOUCHACCA et NICOT 1973); le reste sera traité ultérieurement. Le présent article concerne une mucédinée dont les caractéristiques morphologiques, différentes de celles des genres de champignons imparfaits connus à ce jour, justifient son rattachement à une entité générique nouvelle.

DESERTELLA GEN. NOV.

Diagnosis : *Deuteromycotina, Hyphomycetes Mucedinei. Coloniae diffusae, ochraceae, hyphis superioribus septatis, luteolis vel e brunneis rubidisve luteis. Conidiophoris absentibus. Conidiis ex brevibus ramulis lateralibus hyalinis,*

* Laboratoire de Cryptogamie, 12, rue de Buffon, 75005 Paris. L.A. n° 257 (C.N.R.S.).

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

parum septatis, ortis; quorum fere omnes loculi sporas gignere possunt. Cellulis apicalibus ramorum fertilium in conidias commitantibus, vel, sicut cellulae subapicales, simul vel deinceps gemmas laterales gignentibus. Gemmis lateralibus in conidias cellulis subconidialibus annon praeditas commutantibus. Conidiis unicellularibus, solitariis vel catervatim coactis, subglobosis, luteolis vel e brunneis luteis, latis, inferne truncatis, pariete spissa, verrucosa vel levi. Haud pleomorpha.

Typus: *D. globulifera*

Diagnose : Deutéromycète, Hyphomycète mucédiné. Colonies diffuses ocracées. Hyphes superficielles septées, jaunâtres à jaune brunâtre ou rougeâtre. Conidiophores absents. Conidies formées à partir de courtes branches latérales hyalines peu septées dont toutes les cellules sont potentiellement sporogènes. Cellules apicales des branches fertiles transformées en conidies ou produisant ainsi que les cellules sous-apicales, simultanément ou successivement, des bourgeons latéraux. Bourgeons latéraux devenant des conidies accompagnées ou non de cellules porteuses. Conidies unicellulaires, solitaires ou formées en groupes, subglobuleuses, jaunâtres à jaune brunâtres, larges, à base tronquée, à paroi épaisse, verruqueuse ou lisse. Non pléomorphe.

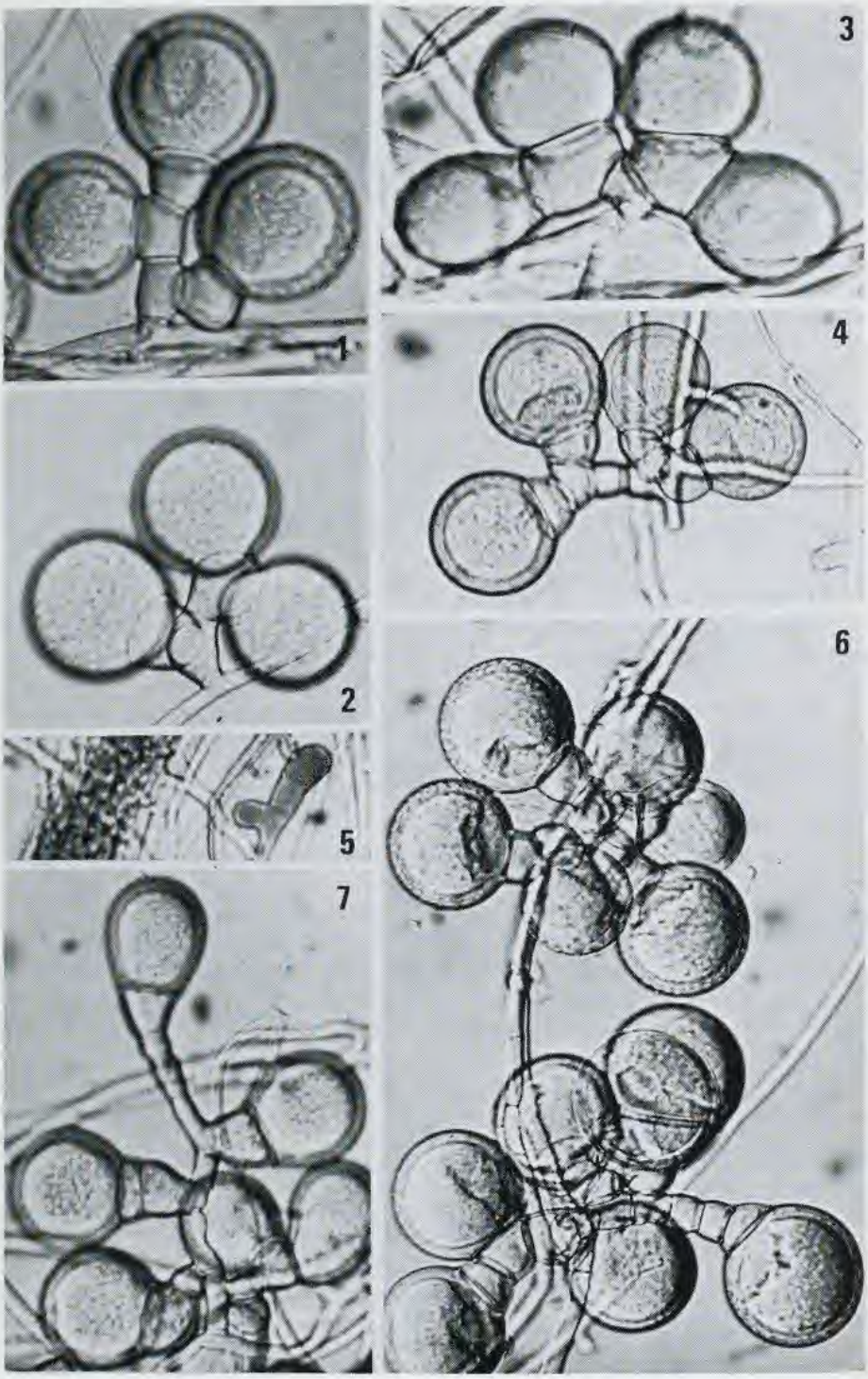
Espèce type : *D. globulifera.*

D. GLOBULIFERA SP. NOV.

Diagnosis : *In maltea gelosa velociter crescens. Coloniae lanatae, ochraceae, mycelio ex hyphis septatis, ramosis, luteolis vel e brunneis luteis, 5-15 µm constante. Conidiophoris absentibus. Conidiis apicalibus lateralibusve, solitariis vel in catervas sex sporarum coactis. Conidiis ex brevibus ramulis lateralibus fertilibus, in 2-6 cellulas hyalinas, pariete tenui transverse divisas, ortis. Cellulis apicalibus ramulorum fertilium plerumque unam conidiam quae solitaria manere potest vel duas conidias laterales sessiles vel 1-2 cellulis subconidialibus praeditas gignere, commutantibus. Cellulis subapicalibus saepe lateraliter, simul vel deinceps, gemmiferis, atque conidias laterales primarias et secundarias sessiles vel cellulis subconidialibus praeditas gignentibus. Conidiis unicellularibus, subglobosis, luteolis vel e brunneis luteis, 40-60 x 42-64 µm, inferne truncatis 18-26 µm latis, pariete 4-8 µm spissa, verrucosa vel levi. Fungus thermotolerans, haud pleomorphus.*

Pl. I. — 1: Ébauche conidienne et branche fertile en forme de massue (x 370). 2: Bourgeonnement latéral primaire et secondaire, plus ou moins simultané des cellules sous-apicales d'une branche fertile (x 450). 3: Bourgeonnement unilatéral simultané de deux cellules sous-apicales d'une branche fertile (x 480). 4: Groupe de branches fertiles en voie de différenciation (x 420). 5-6: Conidies solitaires respectivement pourvues d'une et deux cellules sous-conidiennes (5: x 500; 6: x 360). 7-8, 10: Couples de conidies mûres avec ou sans cellules sous-conidiennes; la conidie latérale dérive de la cellule basale (7: x 500) ou de la cellule sous-apicale (8: x 470 et 10: x 350). 9 et 11: Groupes de conidies réunissant chacun trois spores (9: x 340; 11: x 325).

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

Typus : *ex solo arido isolatus (1974) prope Kharga, in deserto occidentali Aegypti. In Herb. PC.*

D. GLOBULIFERA SP. NOV.

Sur extrait de malt à 3%, gélosé, la croissance du champignon est optimale à 35°C : 9 cm en 3 jours, moins rapide à 25°C et 40°C : 5 cm et 7 cm respectivement en 3 jours; nulle à 45°C. Les colonies d'abord veloutées et hyalines, deviennent laineuses et ocracées à brun clair, rougeâtres par endroits; leur revers est jaune brunâtre à 25°C mais aux températures plus élevées, il acquiert une couleur châtain à ocre sale sans diffusion de pigment dans le substrat.

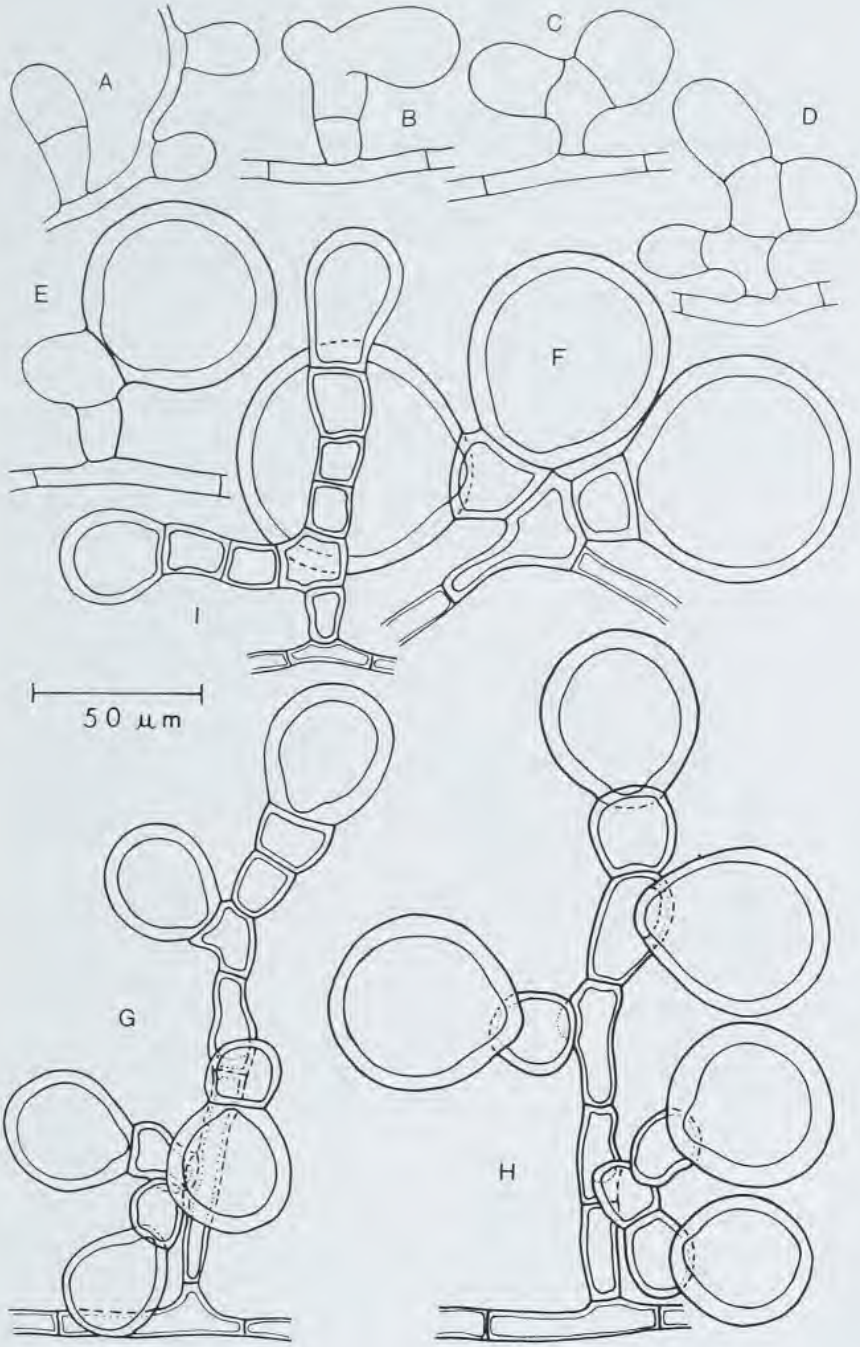
Mycélium aérien formé d'hyphes septées, ramifiées le plus souvent à angle droit, hyalines à jaune brunâtre clair ou rougeâtre, larges de 5-15 μm, fréquemment groupées et anastomosées. Les hyphes les plus larges possèdent une paroi jaunâtre, épaisse (jusqu'à 5 μm) et un lumen étroit. Dans les cultures âgées, on observe la présence de masses de forme allongée, de couleur ocre sale, formées par l'enroulement autour d'une hyphe végétative mère de branches latérales fines qui produisent ultérieurement des ramifications secondaires (Pl. II: 5).

Les conidies, du type blastosporées, apparaissent le plus souvent en position latérale, sur des hyphes isolées ou associées en cordons, et sont solitaires ou réunies en groupes (jusqu'à 6 conidies). Les conidies se forment à partir d'une cellule végétative non différenciée qui produit un bourgeon latéral; celui-ci peut parfois se convertir directement en une conidie sessile mais dans la plupart des cas, il s'allonge progressivement en une courte branche fertile, généralement en forme de massue atteignant jusqu'à 120 μm et souvent individualisée par une cloison basale, divisée transversalement en 2-6 cellules hyalines à paroi mince, à contenu cytoplasmique dense (Pl. 1: 1 et 4; Pl. 3: A).

En général, la cellule apicale des branches fertiles se transforme en une conidie qui demeure solitaire si les cellules sous-apicales n'extériorisent aucune modification ultérieure (Pl. I: 5 et 6); néanmoins, ces dernières peuvent produire des bourgeons latéraux, soit de manière successive et sans ordre apparent, soit de façon simultanée à partir de toutes ou d'une partie d'entre elles (Pl. I: 2 et 3; Pl. III : C-E). Les bourgeons latéraux deviennent eux-mêmes directement des conidies ou, après une courte phase d'allongement, se subdivisent transversalement en 2-3 cellules à comportement analogue à celui des cellules de la

Pl. II. — 1-2: Groupes de conidies respectivement formés de trois spores pourvues ou dépourvues de cellules sous-conidiennes (1: x 350; 2: x 390). 3: Conidies sessiles symétriquement disposées autour du point d'émergence de l'ébauche conidienne (x 600). 4: Bourgeonnements primaire et secondaire de la cellule basale d'une branche fertile (x 310). 5: Détail d'un amas hyphal (x 350). 6: Ensembles conidiens mûrs (x 340). 7: Ensemble conidien à branche fertile allongée observé dans les cultures incubées à 40°C (x 360).

Source : MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

branche fertile mère (Pl. I: 7-11); ce processus secondaire de bourgeonnement ne se répète pas plus de deux fois (Pl. II : 4). La cellule apicale des branches fertiles est également capable dans certains cas de donner naissance à deux bourgeons latéraux qui évolueront respectivement suivant le même schéma (Pl. III : B).

La diversité de comportement des cellules apicales et sous-apicales des branches fertiles conduit à l'apparition d'ensembles conidiens réunissant jusqu'à 6 conidies et dont les éléments se trouvent disposés de façon symétrique ou disymétrique autour du point d'émergence de l'ébauche conidienne. Chez les ensembles conidiens mûrs, certaines conidies apparaissent latéralement accolées par couple à une même cellule porteuse, d'autres sont accompagnées d'une ou deux, rarement trois, cellules sous-conidiennes (Pl. II, 1-3 et 6).

A maturité, les conidies sont unicellulaires, généralement subglobuleuses et le plus souvent légèrement plus larges que longues, parfois globuleuses à ellipsoïdes, de 40-60 x 42-64 μm et sont dépourvues de pore germinatif. Elles ont une base tronquée large de 18-26 μm, un contenu cytoplasmique granulaire, dense, une paroi épaisse (4-8 μm) composée de plusieurs couches, jaunâtre à jaune brunâtre clair, verruqueuse ou lisse. Les conidies se détachent par rupture des cellules porteuses, les cellules sous-conidiennes demeurant souvent attachées aux conidies libérées. Les cellules porteuses et sous-conidiennes, de dimensions sensiblement plus réduites que les conidies sont concolores à maturité, mais leurs parois, également épaisses, restent lisses.

Aucune forme conidienne accessoire n'a été décelée dans les cultures de ce champignon.

Isolé en 1974, d'un échantillon de sol aride collecté au Km 32 sur la route KHARGA-BERIS dans l'oasis de KHARGA, désert occidental de l'Égypte. Cultures types sèche et vivante conservées à PC (Paris).

Le genre *Desertella* se définit par ses cultures ocracées, les caractéristiques morphologiques de ses conidies et l'absence de conidiophore différencié. Ce dernier caractère dérive du fait que chez le *D. globulifera*, les cellules des courtes branches fertiles sont toutes potentiellement sporogènes. Néanmoins dans certains cas, les cellules les plus proches de la base ne produisent pas de conidies mais simulent un conidiophore rudimentaire; ceci s'observe plus particulièrement dans les cultures incubées à 40°C où les branches fertiles peuvent at-

Pl. III. — A: Ébauches conidiennes. B: Bourgeonnement bilatéral d'une cellule apicale. C: Bourgeons latéraux émis par une branche fertile unicellulaire. D: Bourgeonnement bilatéral simultané d'une branche fertile composée de trois cellules. E: Bourgeonnement latéral d'une cellule sous-apicale après transformation de la cellule apicale en conidie mûre. F: Épaississement des parois de la cellule végétative-mère en cas d'absence de cloison basale délimitant la branche fertile. G-I: Ensembles conidiens à branches fertiles étirées, simulant un conidiophore, observés dans les cultures incubées à 40°C; les conidies produites à cette température sont, généralement, de dimensions plus réduites.

Source : MNHN, Paris

teindre 200µm de longueur (Pl. II : 7; Pl. III : G-I). De plus, lorsque la branche fertile n'est pas délimitée par une cloison basale, la cellule végétative mère tend à épaissir ses parois de la même manière que celle des conidies, contrastant ainsi avec les cellules végétatives avoisinantes à parois fines (Pl. III : F).

L'absence de pigment mélanique dans les parois mycéliennes et sporales de l'espèce type du genre *Desertella* distingue ce dernier des champignons dématiés appartenant aux genres imparfaits monoblastiques à conidiophore non différencié suivants : *Acremoniula* Ciferri, *Allescheriella* P. Hennings, et *Humicola* Traaen. Le *D. globulifera* s'écarte aussi des formes, également monoblastiques et non franchement dématiées, telles que *Staphylotrichum* Nicot et Meyer et *Botryotrichum* Sacc. et Marchal qui se différencient respectivement par la possession de conidiophores distincts et d'une forme phialidique accessoire (ELLIS 1971 et 1976). Ses larges conidies unicellulaires le rapprochent de *Bactridiopsis ulei* P. Hennings (1904), mais chez cette Tubercularíacée, les conidies, produites à l'apex de courtes hyphes hyalines, sont ovoïdes à ellipsoïdes, dorées à jaunâtres et sensiblement plus longues : 60-90 x 30-50µm (57-128 x 40-80µm selon DAMON et DOWNING, 1954).

Par ailleurs, si les conidies du *D. globulifera* peuvent être assimilées à des aleuriospores au sens de VUILLEMIN, elles ne sont pas, du point de vue ontogénique, entièrement analogues à celles des genres imparfaits monoblastiques qui produisent généralement leurs blastospores à partir de n'importe quelle cellule végétative non différenciée. Les conidies du *D. globulifera* dérivent de la transformation et de l'activité des cellules de branches spécialisées. Il y a là, par rapport aux entités génériques précisées, une tendance à la délimitation de la fonction reproductrice à un type spécifique de cellules; toutefois, le mécanisme de leur formation est apparemment plus simple que celui qui caractérise les champignons annellophorés, phialidés ou porosporés. De plus, la genèse des blastospores ne suit pas, chez ce champignon, un même schéma répétitif. En effet, la cellule apicale d'une branche fertile peut directement devenir une conidie, selon un mode que l'on peut qualifier de thallique au sens de KENDRICK (1971), mais elle est également capable de donner naissance à deux bourgeons holoblastiques qui se transforment soit intégralement en conidies blastiques soit en conidies et cellules sous-conidiennes également quelquefois fonctionnelles; il en est de même pour les cellules sous-apicales de la branche fertile. Toutefois, la capacité de bourgeonnement cellulaire reste limitée puisqu'un maximum de six conidies par ensemble a été observé. Ces distinctions ontogéniques confirment l'originalité de notre champignon.

Source : MNHN, Paris

BIBLIOGRAPHIE

DAMON S.C. et DOWNING M.H., 1954 — Taxonomic studies in the genus *Coccospora*. *Mycologia* 46: 209-221.

ELLIS M.B., 1971 — Dematiaceous Hyphomycetes. C.M.I., Kew, 1-608.

ELLIS M.B., 1976 — More Dematiaceous Hyphomycetes. C.M.I., Kew, 1-507.

HENNINGS P., 1904 — *Fungi amazonici* III. *a. cl. ERNESTO ULE collecti. Hedwigia* 43: 351-399.

KENDRICK B., 1971 — Taxonomy of Fungi Imperfecti. Univ. Toronto Press, 1-309.

MOUCHACCA J., 1973 — Les *Thielavia* des sols arides: espèces nouvelles et analyse générique. *Bull. Soc. Myc. Fr.* 89: 295-311.

MOUCHACCA J., 1975 — Espèces nouvelles et communes de *Drechslera*, isolées de sols de régions arides. *Rev. de Mycol.* 38: 109-113.

MOUCHACCA J., 1977 — Sur un nouveau discomycète : *Ascobolus egyptiacus*. In «Travaux dédiés à G. VIENNOT-BOURGIN», Société Française de Phytopathologie : 263-267.

MOUCHACCA J. et NICOT J., 1973 — Les *Fusariella* des sols arides. *Rev. de Mycol.* 37: 168-182.

Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

LE GENRE RHIZOSPHAERA MANGIN ET HARIOT

1. R. OUDEMANSII et R. MACROSPORA nov. sp.

par F. GOURBIERE* et M. MORELET**

RÉSUMÉ. — Les auteurs décrivent *Rhizosphaera oudemansii* Maublanc, une espèce peu connue de Sphaeropsidales (Coelomycètes), ainsi qu'une nouvelle espèce trouvée sur aiguilles d'*Abies alba* : *Rhizosphaera macrospora* Gourbière et Morelet. Ces deux champignons sont également décrits en culture pure où ils forment un mycélium de type *Hormonema*.

SUMMARY. — The authors give a description of *Rhizosphaera oudemansii* Maublanc, a little-known species of Sphaeropsidales (Coelomycetes) and of a new species : *Rhizosphaera macrospora* Gourbière et Morelet, found on needles of *Abies alba*. These two fungi give a *Hormonema* state in pure cultures.

Créé en 1907 par MANGIN et HARIOT puis révisé en 1967 par KOBAYASHI, le genre *Rhizosphaera* regroupe quelques Sphaeropsidales bien caractérisées par un type particulier de pycnide et par leur habitat limité strictement aux aiguilles de conifères sur lesquelles elles apparaissent lors de nombrex dessèchements dont elles peuvent parfois être la cause.

La distinction des espèces se fonde essentiellement sur la biométrie des conidies. KOBAYASHI retient quatre espèces auxquelles il convient d'ajouter deux espèces décrites depuis, dont une ici même. *R. kalkhoffii* Bubak est l'espèce la mieux connue, à cause de son action pathogène certaine, c'est aussi la seule bien décrite en culture.

* Laboratoire d'Écologie Végétale, Université Lyon I, Bat. 741, 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, 69621 Villeurbanne.

** Laboratoire de Pathologie forestière, C.N.R.F., Champenoux 54280 Seichamps.

Source : MNHN, Paris

R. pini (Corda) Maublanc, plusieurs fois décrites, apparaît aussi comme une bonne espèce mais mal connue en culture.

R. oudemansii Maublanc est retenue par KOBAYASHI comme valable, mais sans nouvelles observations.

Cet auteur décrit aussi une autre espèce, qui est validée par MORELET en 1969 comme variété du *R. pini*, puis élevée ultérieurement au rang spécifique sous le nom de *R. kobayashii* (MORELET 1973b) Enfin la même année ce dernier auteur publie une nouvelle espèce *R. media* (MORELET 1973a).

Nous intéressant à l'écologie de ces champignons à la fois dans leur aspect phytopathogène et dans leur rôle saprophyte, nous nous proposons de publier une série de notes à leur sujet.

Cette première étude donne la description, ainsi que les caractères culturaux de *R. oudemansii* et de *R. macrospora*.

1. STRUCTURE DES PYCNIDES DANS LE GENRE *RHIZOSPHAERA*.

Les pycnides se présentent à la face inférieure des aiguilles en rangées parallèles parfois très denses, implantées sur les rangées de stomates. Elles sont subglobuleuses, superficielles, noires, de 50 à 200 μm de diamètre, souvent surmontées d'une masse blanche constituée par le bouchon cireux de l'ostiole soulevé lors du développement de la pycnide à travers le stomate. Les différentes espèces sont indiscernables d'après les pycnides, bien que celles des deux espèces étudiées ici soient en général moins noires que celles des autres espèces.

En coupe transversale le mycélium, épars dans les tissus de l'aiguille mais surtout intercellulaire, vient former dans les cavités sous-stomatiques des stromas (hypostroma de KOBAYASHI) de 20-100 μm de diamètre. De ce stroma quelques filaments traversent l'ostiole en un très fin pédicelle puis se divisent et viennent former la paroi de la pycnide, qui est formée d'une seule assise cellulaire. On rencontre parfois d'autres filaments dans la cavité, soit libres, soit rejoignant la paroi; ils n'ont pas valeur de conidiophores et ont la même origine que les filaments formant la paroi.

Les conidies sont formées par les cellules de la paroi ou (et) les cellules des filaments internes, sans différenciation de conidiophores. La déhiscence est irrégulière, parfois déchirant largement la pycnide, parfois plus limitée; elle a pu alors être prise pour un pore.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

La présente étude porte sur deux récoltes sur *Abies alba* Mill. dont l'un de nous étudie en détail la microflore fongique. D'autres observations, sur d'autres hôtes, seront publiées ultérieurement.

Sauf indications contraires les spores sont mesurées après montage de pycnides ou de cultures dans du lactophénol, cinquante spores sont dessinées à la

Source : MNHN, Paris

chambre claire et mesurées sur le dessin. Les coupes transversales de pycnides sont exécutées au microtome à 2-3μm d'épaisseur après fixation des aiguilles au mélange de Bouin-Hollande et inclusion dans la paraffine. Nous avons utilisé des colorations par le bleu coton (cytoplasmique), le bleu de toluidine et le Giemsa (coloration des parois).

Les contaminations bactériennes rendant les isolements à partir de spores très aléatoires, nous avons procédé par repiquages de pycnides entières à l'état sec sur du PDA également bien sec en surface. Dans ces conditions nous avons toujours obtenu de bons résultats, même avec des récoltes très pauvres en spores.

Les cultures sont décrites sur PDA (Meyrieux) en boîte de Pétri plastique de 90 mm de diamètre, à 20°C, à l'obscurité.

A partir de ces cultures nous avons pu réobtenir les pycnides caractéristiques en y plaçant des aiguilles de sapin stérilisées. Pour cela les aiguilles sont débarrassées de leur face supérieure (scalpée à la lame de rasoir), stérilisées une nuit par l'oxyde de propylène gazeux (témoins stériles) et placées sur une culture de 15 jours, face supérieure contre le milieu. Les pycnides apparaissent à la face inférieure après 5-6 jours, à travers les stomates et sont absolument semblables aux pycnides d'origine.

3. *RHIZOSPHAERA OUDEMANSII* MAUBLANC.

Bull. Soc. mycol. Fr. 23: 173, 1907.

Synonyme: *Sacidium abietis* Oudemans.
Contr. Fl. myc. Pays-Bas XVII: 333, 1900.

a) Matériel étudié : Herbier F. Gourbière (Lyon) n° 9, rameau desséché d'*Abies alba* Mill., 6.10.1977, Tarentaize, Mont Pilat, Loire, France. Altitude 1100m. Coupes transversales d'aiguilles : lames 1 à 15. En mélange avec *R. pini*.

b) Stade pycnidien en nature. Pycnides superficielles, subglobuleuses, insérées en files sur les rangées de stomates à la face inférieure des aiguilles, brun noir à l'état sec, s'éclaircissant à l'humidification, à paroi flasque souvent déformée, élargie à la base et appliquée contre l'épiderme, surmontées souvent du bouchon cireux de l'ostiole (Pl. I: A et B). Pas de pore, déhiscence irrégulière. En coupe transversale, stroma sous stomatique mesurant 25-35μm de large x 25-40μm de haut, pycnide de 50-70 x 55-90μm (fig. 1a). Par endroits cellulaire, recouverte à l'extérieur par une couche amorphe brune, ailleurs seulement délimitée par cette dernière couche ou, en particulier à la base, par une mince membrane hyaline, la paroi n'apparaît jamais régulièrement cellulaire comme celle des autres *Rhizosphaera* décrits par MANGIN et HARIOT puis par KOBAYASHI. Il est intéressant de noter que cette structure est parfaitement décrite par VUILLEMIN (1896, *sub. nom. Sacidium pini* (Cda) Fr.) chez *Rhizosphaera pini*, et confirmée par MAUBLANC (1907). Chez certaines pycnides (fig. 1b) seule la membrane hyaline existe; en microscopie électronique à balayage on la voit alors (Pl. I: A et B) venir mouler les spores. Par ailleurs nous

Source : MNHN, Paris

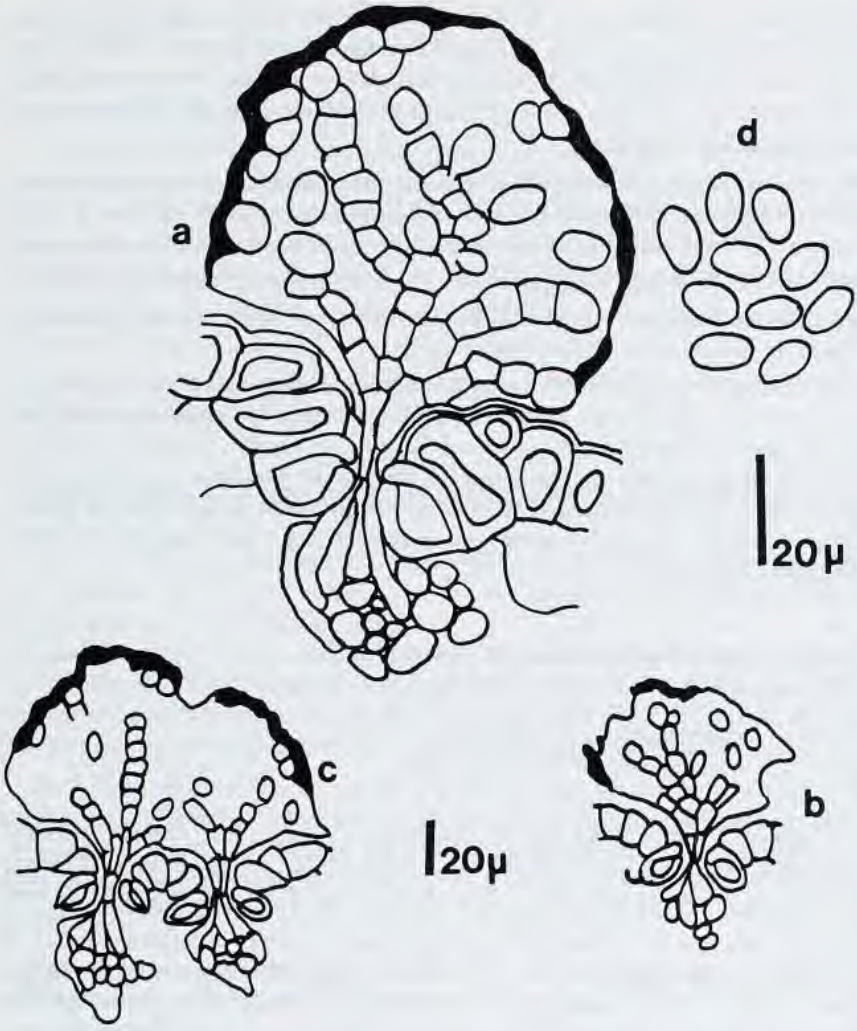


Fig. 1. – *Rhizosphaera oudemansii*, coupes transversales de pycnides (a-c) et conidies (d) sur *Abies alba*.

avons souvent observé la cohalescence de deux pycnides voisines, pourvues chacune d'un stroma mais dont les parois confluent en une seule cavité (fig. 1c).

Les hyphes provenant du stroma se ramifient en bouquet à l'intérieur de la cavité où elles restent libres ou rejoignent les parties cellulaires de la paroi (en leur donnant naissance).

Ces hyphes de 4-8 µm de large portent directement les conidies (fig. 1d) unicellulaires, ovoïdes, hyalines et lisses.

Sur l'échantillon n° 9 les conidies mesurent 10,6 (9-13) x 7 (6-9) µm.

Source : MNHN, Paris

Dans des pycnides obtenues in vitro à partir de la culture B3 issue du même échantillon nous avons trouvé 9,5 (8-11) x 5,5 (4,7) µm pour des conidies jeunes (7 jours) et 10,9 (9-14) x 7,1 (6,9) µm pour des conidies plus âgées (15 jours).

La déhiscence est très irrégulière, par large déchirement de la paroi.

c) Stade mycélien en culture. Le souche B3 décrite a été obtenue à partir de la récolte n° 9 décrite ci-dessus.

– Aspect. Croissance sur PDA à 20°C rapide, colonies de 60 mm de diamètre en 10 jours.

Sur cultures âgées (21 jours) mycélium brun sombre avec une nuance bistre (Munsell 10YR 2/2, 3/2, 4/2), gélose devenant ocre beige (10 YR 6/6), colonie à fibrilles rayonnantes très distinctes et très ramifiées de façon régulière donnant à l'ensemble un aspect dendroïde, fasciculé voire légèrement palmé (Pl. I: C). Ce mycélium est presque entièrement submergé sauf dans un rayon de 2 cm autour de l'implant où se développe un mycélium superficiel brun noir mat. Marge irrégulière largement submergée. Au verso couleurs identiques. Odeur nulle.

En cours de croissance (10 jours) la colonie montre trois zones concentriques : une zone centrale brun noir mat en surface, une zone médiane où les hyphes brunissent et une zone externe à hyphes concolores au milieu où diffuse le pigment ocre beige.

Sur malt à 2% les cultures sont assez semblables mais l'aspect fibrillaire est bien moins net.

– Microscopie. (fig. 2). Hyphes jeunes à paroi mince et hyaline (a-i) de 5-7 µm, puis 8-13 µm de large, d'abord non cloisonnées à la marge puis à cellules largement rectangulaires (a-f) ensuite se recloisonnant transversalement pour donner des cellules carrées (les cellules deviennent très rarement plus larges que longues, de même les recloisonnements longitudinaux sont exceptionnels). Les cellules brunissent rapidement (l-n), avec parfois, surtout dans la gélose, de gros dépôts en gouttelette contre les parois (n). La paroi s'épaissit mais ce phénomène est surtout marqué au niveau de cellules élargies, souvent groupées par deux, à allure de chlamydospores (m).

– Sporulation (Pl. I: E et F). Cellules conidiogènes indifférenciées, le plus souvent intercalaires (fig. 2 a, f, g), parfois terminales sur de courts rameaux latéraux (fig. 2 b, e), formant des blastoconidies (fig. 3 a-f) en quelques points, le plus souvent près des extrémités. Il n'y a pas formation «en bouquet» sur un même site mais peut-être successivement (fig. 2 f). Après le départ de la conidie il reste une cicatrice en cupule de 1-2 µm de large, avec épaississement latéral mais pas de cicatrices multiples visibles (fig. 3 g-j).

Conidies (fig. 2 a-g) unicellulaires, hyalines et lisses, ovoïdes 10,8 (8-14) x 6,9 (5-9) µm, avec l'âge elles augmentent de taille 13,9 (11-17) x 9,4 (8-11) µm, pour la plupart brunissent et assez souvent se cloisonnent (fig. 2 i-k).

Source : MNHN, Paris

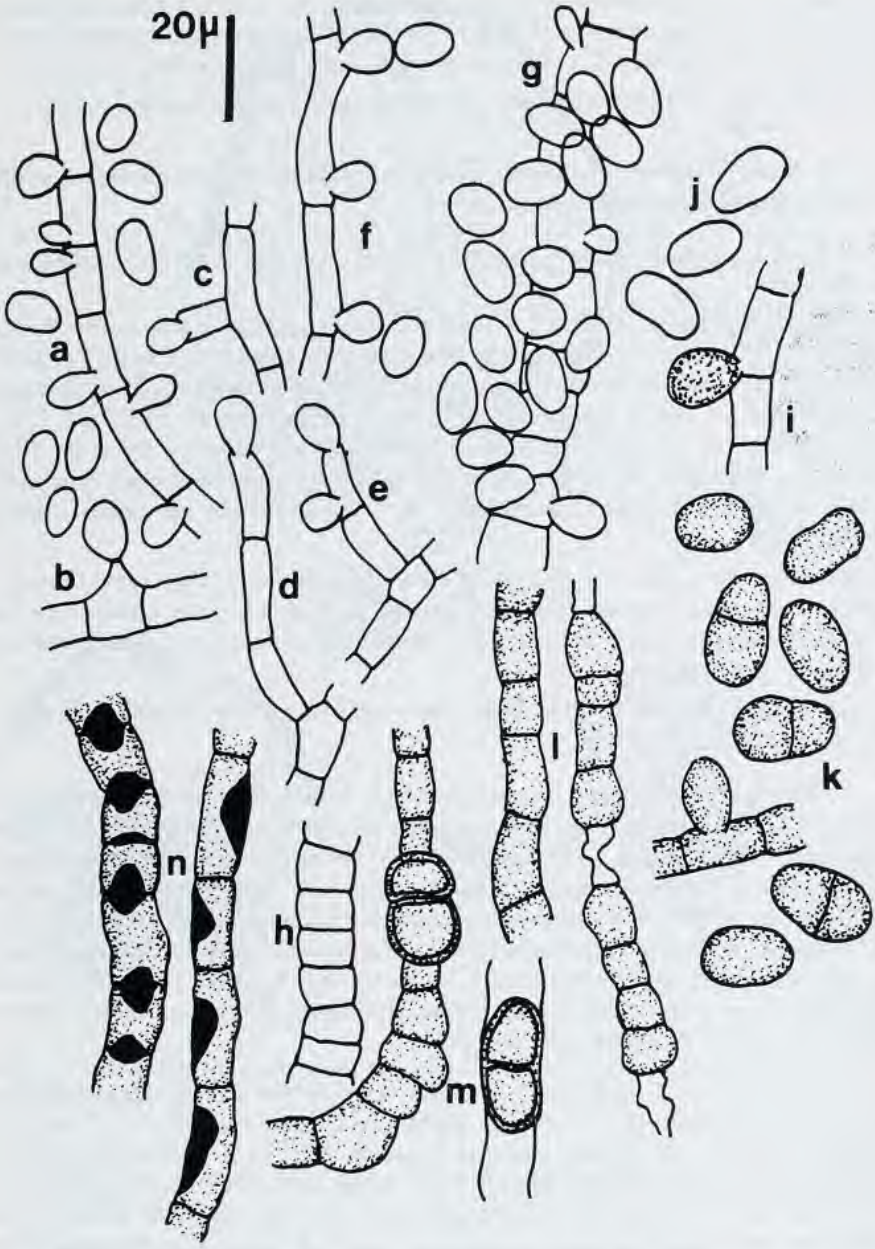


Fig. 2. – *Rhizosphaera oudemansii* en culture sur PDA. Hyphes jeunes (a-h), hyphes âgées brunes (i-n), voir texte pour le détail.

Source : MNHN, Paris

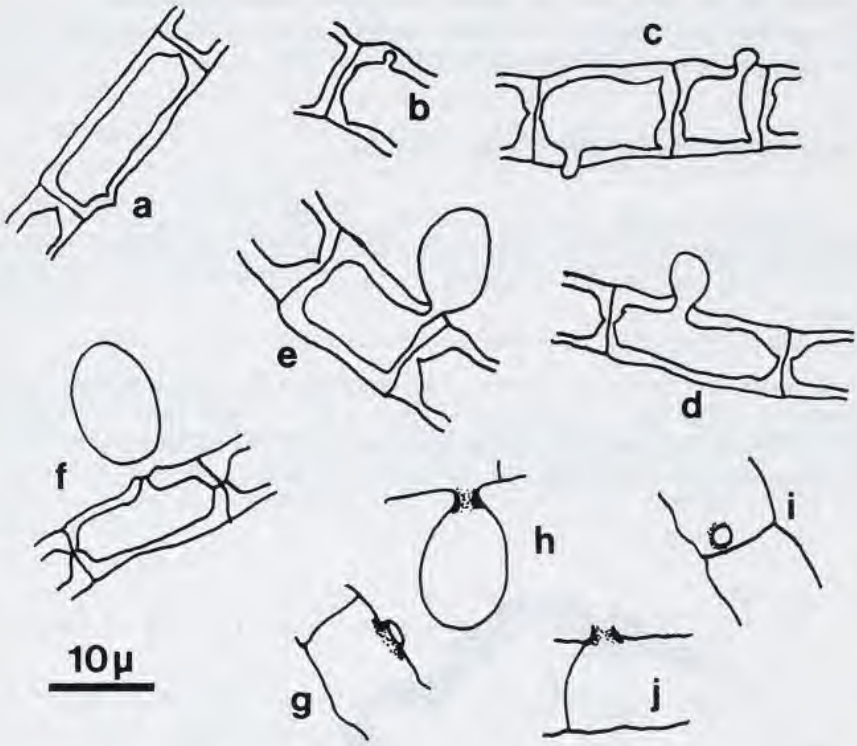


Fig. 3. — *Rhizosphaera oudemansii*, sporulation en culture sur PDA, a-f: coupes optiques après coloration au bleu coton, g-j: coloration au bleu de toluidine.

Pour préciser cette biométrie nous avons effectué les mesures suivantes sur une culture de 11 jours.

Conidies hyalines :

zone externe superficielle	11,4 (9-15) x 7,1 (6,9) µm
zone externe profonde	10,5 (8-14) x 6,4 (5-9) µm
zone médiane superficielle	11,6 (9-14) x 7,5 (6-9) µm
zone médiane profonde	11,2 (9-14) x 7,5 (5-10) µm
zone centrale profonde	11,1 (9-15) x 7,3 (5-10) µm

Conidies brunes :

zone médiane superficielle	13,5 (11-17) x 8,6 (8,11) µm
zone centrale superficielle	13,2 (10-17) x 8,4 (7-10) µm

Les conidies hyalines en culture sont très semblables (légèrement plus grandes) aux conidies des pycnides. Le brunissement s'accompagne d'une augmentation de taille sensible et se produit surtout en surface des cultures.

Source : MNHN, Paris

L'ensemble de ces caractères permet de classer le stade cultural de *Rhizosphaera oudemansii* dans le genre *Hormonema* Lagerb. et Melin tel qu'il a été récemment précisé par HERMANIDES-NIJHOF (1977).

4. *RHIZOSPHAERA MACROSPORA* NOV. SP.

a) Matériel étudié. Herbier Gourbière (Lyon) n° 8, rameau desséché d'*Abies alba* Mill., 10.7.1977, environs du Lac Chalain, Jura, France. Altitude 540 m. Coupes transversales d'aiguilles 16.17.18. En mélange avec *R. oudemansii*.

b) Stade pycnidien en nature. Extérieurement les pycnides sont indiscernables de celles de *R. oudemansii*. Comme nous avons jusqu'ici toujours rencontré les deux espèces en mélange, parfois sur la même aiguille, seule l'étude de nombreuses coupes d'aiguilles permet de les repérer avec certitude.

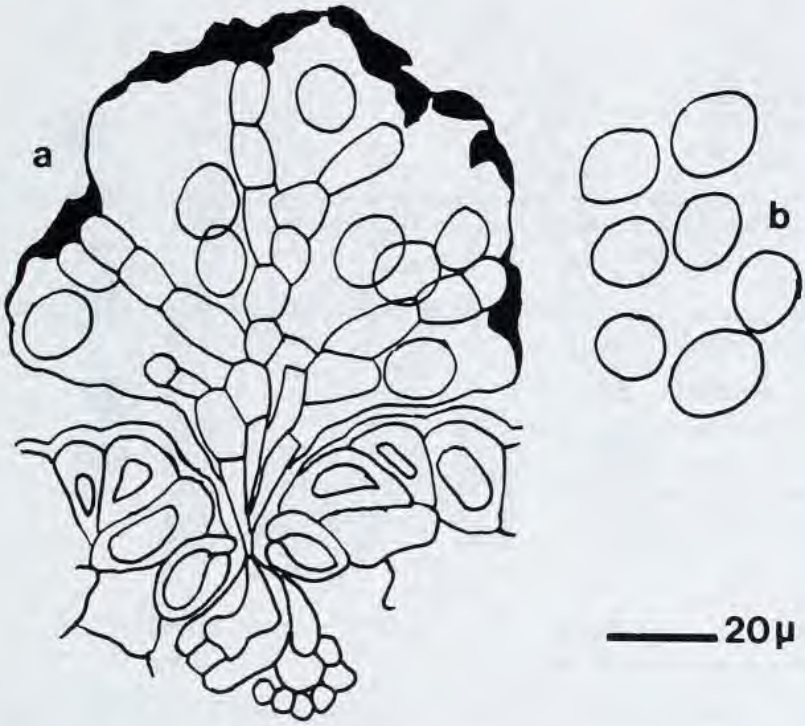


Fig. 4. — *Rhizosphaera macrospora*, coupe transversale de pycnide (a) et conidies (b) sur *Abies alba*.

Source : MNHN, Paris

En coupe transversale la structure des pycnides (fig. 4 a) est la même que chez *R. oudemansii*, en particulier au niveau de la paroi. Par contre les cellules des filaments internes sont plus grandes. La différence essentielle est la plus grande taille et la forme plus ronde des spores (fig. 4 b) :

- sur échantillon n° 8, 17,2 (13-22) x 14,8 (11-18) µm après montage
- dans le lactophénol, 13,7 (11-17) x 11,5 (10-14) µm sur coupe après montage dans le Baume du Canada.

Les conidies des pycnides obtenues in vitro à partir de la culture B 2 issue du même échantillon mesuraient 16,0 (12-20) x 12,9 (10-17) µm dans le lactophénol.

Nous décrivons cette espèce comme nouvelle avec la diagnose suivante :

Rhizosphaera macrospora nov. sp.

Pycnidiis superficialibus, atris, 50-100 µm, longitudinaliter in foliarum inferiore facie seriatis, ad sclerotia substomaticam pedunculo religatis, pariete ex parte celluloso et ex parte informi. Sporulis directe generatis in internorum filamentorum cellulis. Sporulis ovoidibus fere globulosis, leavibus, hyalinis, 11-22 x 10-18 µm.

Hab. in foliis subvivis Abieti albae, Tarentaize, Loire, *Gallia*. 10.7.1977. Herbier Gourbière (Université Lyon I) n° 8 (lames 16, 17, 18).

c) Stade mycélien en culture. La souche B2 décrite a été obtenue à partir de la récolte n° 8 décrite ci-dessus.

– Aspect. Croissance rapide sur PDA à 20°C, les colonies de 10 jours atteignent 65 mm de diamètre.

Sur culture âgée (21 jours) mycélium brun sombre (7.5 YR 4/4) et milieu largement coloré (7.5 YR 6/8), mycélium en cordons rhizomorphiques sinueux (Pl. I: D) très distincts, épaissis par les spores, finement ramifiés latéralement, donnant à l'ensemble un aspect rayonné arbusculaire. Ce mycélium est presque entièrement submergé sauf dans un rayon de 1-2 cm autour de l'implant où se développe un mycélium superficiel brun noir mat. Marge fibrillaire lâche submergée. Aspect et couleurs identiques au verso. Odeur nulle.

En cours de croissance (10 jours) on observe au centre une zone brun noir mat superficielle, puis une zone médiane en voie de brunissement passant à la zone marginale à hyphes concolores au pigment diffusé.

Sur malt à 2% l'aspect est très différent: colonie cohérente, vert sombre, duveteuse.

– Microscopie (fig. 5). Hyphes jeunes (a-d) hyalines à paroi mince, 8-16 puis 10-25 µm de large (plus large que chez *R. oudemansii*), non cloisonnées à la marge puis à cellules rectangulaires voire carrées (rarement plus larges que longues, rarement recloisonnées longitudinalement). Dans les parties âgées (e-g) les hyphes brunissent avec dans certaines cellules un dépôt noirâtre en goutte collée contre la paroi (g). L'épaississement de la paroi est surtout sensible

Source : MNHN, Paris

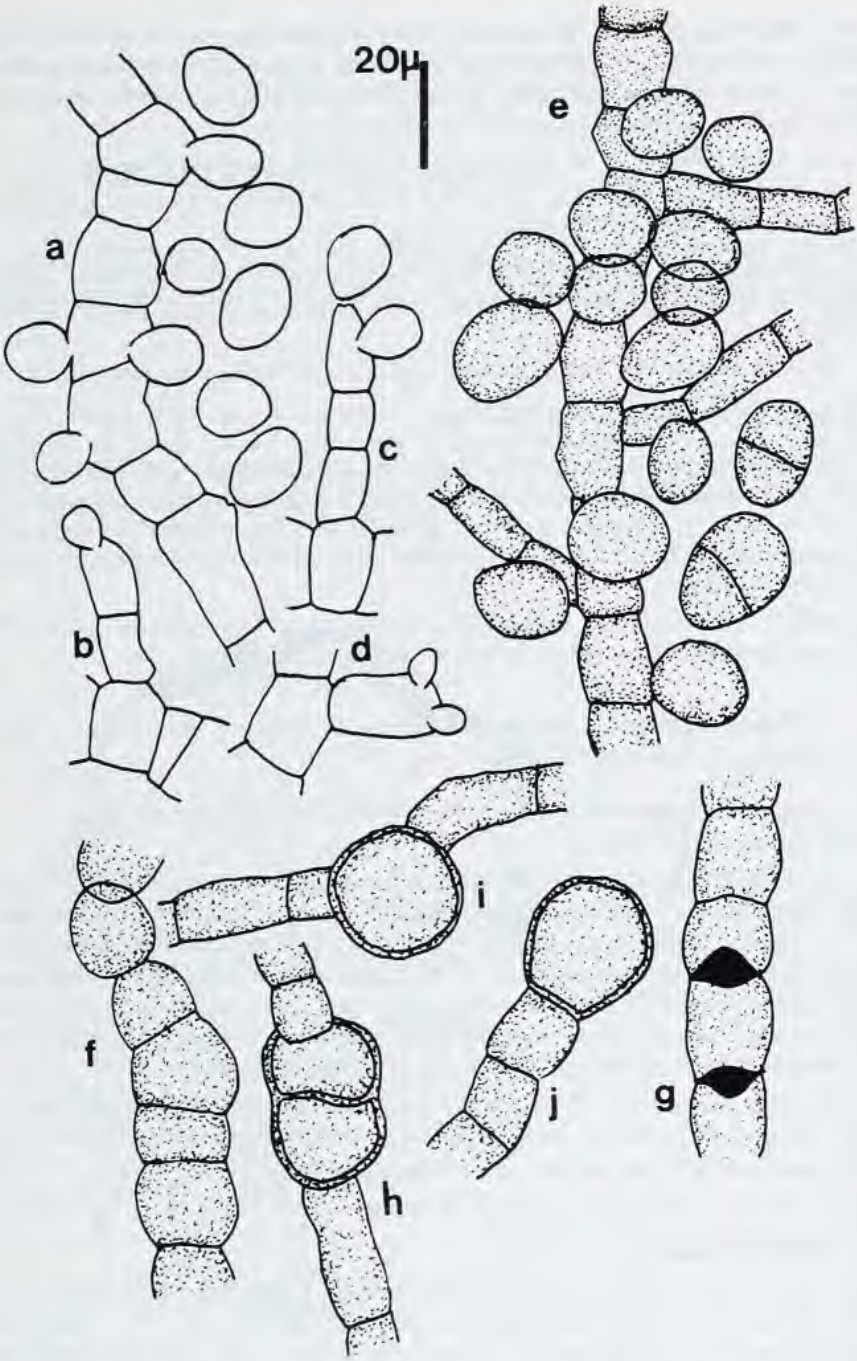


Fig. 5. – *Rhizosphaera macrospora* en culture sur PDA, hyphes jeunes (a-d) et hyphes âgées brunes (e-j), voir texte pour le détail.

Source : MNHN, Paris

dans les cellules plus larges, intercalaires ou terminales souvent groupées par deux (h-j).

– Sporulation (Pl. I: G). Cellules conidiogènes indifférenciées, le plus souvent intercalaires (fig. 5 a) parfois terminales sur de courts rameaux latéraux (b-d), sur des hyphes incolores ou déjà brunes, formant des blastoconidies en quelques points, près des extrémités en général. Les détails de la conidiation sont les mêmes que chez *R. oudemansii*.

Conidies hyalines, unicellulaires (fig. 5 a-d), lisses, ovoïdes-arrondies, 13,8 (11-20) x 11,5 (8-14) µm, augmentant de taille avec l'âge, 18,1 (13-25) x 14,2 (11-18) µm; elles brunissent et se cloisonnent parfois (fig. 5 e).

Comme pour le *R. oudemansii* nous avons précisé ces mesures sur une culture de 11 jours.

Conidies hyalines :	
zone externe superficielle	15,6 (12-22) x 13,0 (10-17) µm
zone externe profonde	14,7 (9-18) x 12,2 (8-15) µm
zone médiane profonde	14,7 (11-21) x 11,9 (10-15) µm
Conidies brunes :	
zone médiane superficielle	17,9 (14-24) x 14,4 (11-18) µm
zone centrale superficielle	17,2 (12-24) x 13,1 (9-17) µm
zone centrale profonde	17,2 (14-23) x 13,7 (11-18) µm

Rhizosphaera macrospora donne donc en culture un mycélium de type *Hormonema*, la biométrie des conidies étant peu différente de celle rencontrée dans les pycnides.

5. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les deux espèces décrites ici se distinguent des autres *Rhizosphaera* connus par l'importance prise dans la pycnide par les filaments internes aux dépens de la paroi et de façon plus nette encore par la biométrie des spores qui reste le critère majeur de séparation des espèces dans ce genre (KOBAYASHI 1967, MORELET 1973a).

R. oudemansii et *R. macrospora* se ressemblent par leur comportement en culture qui donne des mycéliums de type *Hormonema* présentant d'indiscutables analogies: vitesses de croissance voisines, présence de pigments diffusibles. Ce dernier caractère est, à notre connaissance, unique dans les genres *Hormonema* et *Aureobasidium* Viala et Boyer. D'après la description de WATERMAN (1947) *R. kalkhoffii* paraît aussi posséder un stade *Hormonema* en culture, mais d'aspect bien différent d'après nos propres isolements. Notons aussi que ces cultures se distinguent facilement du stade *Hormonema* de *Scleroph oma pityophila* (Corda) Höhn., fréquemment présent sur ces mêmes aiguilles de conifères. Nous aurons l'occasion de préciser ces comparaisons dans une note ultérieure. De toute façon l'obtention de pycnides caractéristiques en culture

Source : MNHN, Paris

sur aiguilles stérilisées permet toujours de vérifier la détermination des cultures de *Rhizosphaera*.

R. oudemansii et *R. macrospora* diffèrent essentiellement par la biométrie des spores (fig. 6). A condition de mesurer des spores encore hyalines, les dimensions en culture sont dans les deux cas identiques à celles des conidies formées dans les pycnides. Même en tenant compte des conidies brunes en culture, les deux espèces restent parfaitement distinctes (et distinctes des autres *Rhizosphaera*).

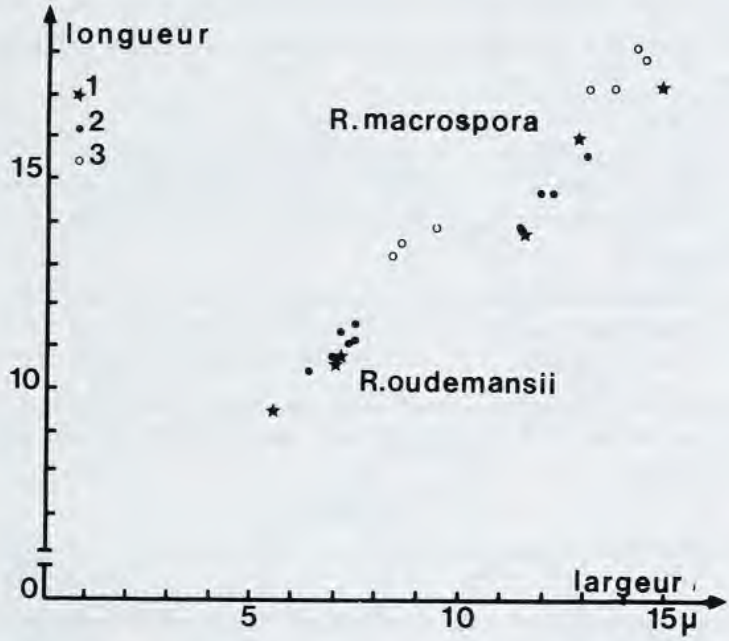


Fig. 6. — Biométrie des spores de *Rhizosphaera oudemansii* et de *R. macrospora*. 1: conidies de pycnides, 2: blastospores hyalines en culture, 3: blastospores brunes en culture.

Les travaux de l'un de nous (GOURBIERE 1974, 1975) permettent de préciser l'écologie de ces deux espèces dans le cas du sapin. En effet, sous le nom d'*Aureobasidium* sp. 1, nous avons rencontré *R. oudemansii* :

- sur environ 16% des aiguilles vivantes, surtout les aiguilles âgées
- sur plus de 50% des aiguilles sénescentes à leur chute
- dès l'arrivée au sol les isolements se raréfient (5% des aiguilles en L, 4% en F1, 1% en F2).

Ces données concernent des isolements en culture à partir d'aiguilles dépourvues (en majorité) de pycnides. Ces dernières ne s'observent que sur les rameaux desséchés.

Source : MNHN, Paris

Concernant *R. macrospora* nous avons moins de données car nous ne l'avons pas distingué dans la microflore des aiguilles vivantes et sénescentes, probablement parce qu'il y est assez rare. Par contre nous avons constaté qu'il subsistait (avec d'ailleurs un certain polymorphisme en culture) plus longtemps dans la litière au sol, ce qui le rend plus abondant que *R. oudemansii* sur les aiguilles L (8%), F1 (8%) et F2 (6%) de la litière. Comme il est probable qu'à ces stades les isolements proviennent de formes de résistance et non de mycélium actif, on peut penser que celles de *R. macrospora* résistent mieux à l'environnement de la litière.

Dans la sapinière étudiée (Tarentaize, Loire, France, 1100m d'altitude), *R. oudemansii* se comporte donc en saprophyte primaire sur les aiguilles sénescentes. Il est alors présent sous forme mycélienne (sporulée ou non?). La formation des pycnides est limitée aux aiguilles des rameaux desséchés où *Rhizosphaera* peut être considéré comme un parasite de faiblesse (ou d'équilibre) sans que l'on puisse le rendre responsable du desséchement.

Ces travaux permettront peut être d'éclaircir les relations entre saprophytes primaires et parasites d'équilibre. Dans notre cas *R. oudemansii* a été décrit par OUDEMANS sur *Abies grandis* (Dougl.) Lindl. en Hollande, puis revu par MORELET (1975) en France sur divers conifères (*Abies alba* Mill., *Abies cephalonica* Lond., *Picea omorica* (Pancic) Purkyne, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). Son parasitisme d'équilibre semble donc de spécificité assez large et de répartition géographique étendue. Par contre son rôle saprophyte n'est pour le moment connu que dans une station d'*Abies alba*. Notons que HAYES (1965) a étudié la microflore des aiguilles d'*Abies grandis* en Angleterre sans signaler de *Rhizosphaera*. Une étude plus large permettrait de savoir si les deux écologies ont des répartitions différentes et de connaître les facteurs qui les contrôlent.

Il apparaît donc qu'une triple approche : systématique, phytopathologique et écologique soit nécessaire pour comprendre les développements de microflore lors de la sénescence. C'est un peu le but de cette note et des suivantes.

Nous exprimons nos remerciements à Melle J. LECOCQ (Nantes) pour les clichés de MEB, à Mme A. DAVID (Lyon) qui nous a aidés à rédiger les descriptions de cultures, et enfin à Mmes C. MOULIN et J. HAURAT pour leur collaboration technique.

BIBLIOGRAPHIE

BUBAK K.F., 1914 — Eine neue *Rhizosphaera*. *Ber. Deut. Bot. Ges.* 32: 188-190.

GOURBIERE F., 1974 — Les champignons microscopiques liés aux aiguilles de Sapin (*Abies alba* Mill.). 2. Variations saisonnières de la microflore des aiguilles tombantes. *Bull. Soc. mycol. Fr.* 90: 325-333.

GOURBIERE F., 1975 — Les champignons microscopiques liés aux aiguilles de Sapin

Source : MNHN, Paris

(*Abies alba* Mill.). 3. Microflore des aiguilles vivantes. *Bull. Soc. mycol. Fr.* 91: 429-441.

KOBAYASHI T., 1967 – Critical revision on the genera *Rhizosphaera* Mangin et Hariot and *Rhizophoma* Petrak et Sydow, a little-known fungous group associated with needle disease of conifers. *Bulletin of the Government Forest Experiment Station* 204: 91-107, Tokyo, Japan.

HAYES A.J., 1965 – Studies on the decomposition of coniferous leaf litter II. Changes in external features and succession of microfungi. *Journal of Soil Science* 16: 242-247.

HERMANIDES-NIJHOF E.J., 1977 – *Aureobasidium* and allied genera. *Studies in Mycology* 15: 141-176 (CentraalBureau Voor Schimmelcultures, Baarn, Netherlands).

MANGIN L. et HARIOT P., 1907 – Sur la maladie du Rouge du Sapin pectiné dans la forêt de la Savine (Jura). *Bull. Soc. mycol. Fr.* 23: 53-68.

MAUBLANC M.A., 1907 – Sur la maladie des Sapins produite par le *Fusicoccum abietinum*. *Bull. Soc. mycol. Fr.* 23: 160-173.

MORELET M., 1969 – Deuxième bloc-notes mycologique. *Bull. Soc. Sci. nat. Archéol.* (Toulon, Var) 180: 3-4.

MORELET M., 1973a – De aliquibus in mycologia novitatibus (8ème note). *Bull. Soc. Sci. nat. Archéol.* (Toulon, Var) 29 (203): 12.

MORELET M., 1973b – De aliquibus in mycologia novitatibus (9ème note) *Bull. Soc. Sci. nat. Archeol.* (Toulon, Var) 29 (204): 8.

MORELET M., 1975 – Rapport annuel 1975 du Laboratoire de Pathologie Forestière. INRA, CNRF, 16 p.

MUNSELL BOOK OF COLOR, 1954 – Munsell Color C°, Baltimore, Maryland, U.S.A.

OUDEMANS C.A.J.A., 1900 – Contributions à la flore mycologique des Pays-Bas XVII. *Overdr. Ned. Kruidk. Archief.* 3ème sér., II. 1° Stuk.: 170-353.

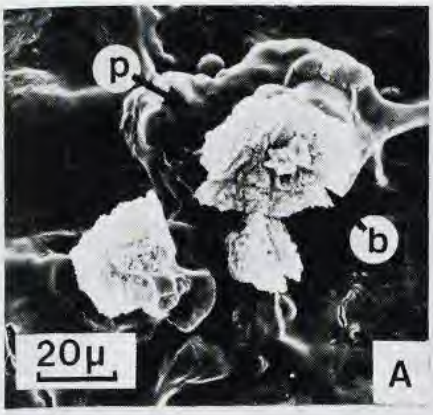
VUILLEMIN M.P., 1896 – Quelques champignons arboricoles nouveaux ou peu connus. *Bull. Soc. mycol. Fr.* 12: 33-44.

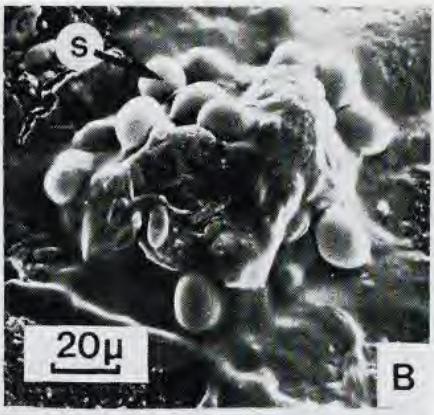
WATERMAN A.M., 1947 – *Rhizosphaera kalkhoffi* associated with a needle cast of *Picea pungens*. *Phytopathology* 37: 507-511.

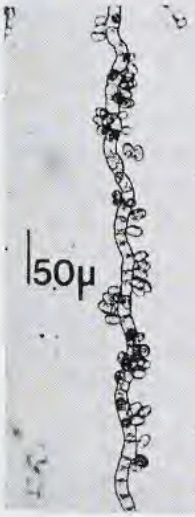
LÉGENDE DE LA PLANCHE I

A et B: pycnides de *Rhizosphaera oudemansii* sur aiguille d'*Abies alba* observées au microscope électronique à balayage. p: pycnide, b: bouchon cireux de l'ostiole du stomate sur lequel est implantée la pycnide, s: spore. – C: culture sur PDA de *Rhizosphaera oudemansii* (21 jours). – D: culture sur PDA de *Rhizosphaera macrospora* (21 jours). – E: mycélium et spores de *R. oudemansii* en culture (coloration au bleu coton). – G: mycélium et spores de *R. macrospora* en culture.

Source : MNHN, Paris







Source : MNHN, Paris

Source : MNHN, Paris

ÉTUDE SUR LES CHAMPIGNONS PARASITES DU SUD-EST ASIATIQUE.

XVIII. Douxième note sur les Cercospora de Malaisie.

par Jo-Min YEN*

Cercospora cassiae-nodosae Yen, nov. sp.

Sur les feuilles du *Cassia nodosa* (Légumineuse), à Kuala Lumpur (For. Res. Inst.), Malaisie, leg. Jo-min Yen (n° 71339), 28 sept. 1971.

Description du champignon

Macules amphigènes, très distinctes, noires, orbiculaires ou suborbiculaires, isolées, dispersées, mesurant 1-2 mm de diamètre, rarement confluentes par 2 ou 3.

Fructifications strictement hypophylles, invisibles à l'oeil nu, mais laissant voir, à la loupe, des petits poils noirs à la face inférieure de la macule, qui correspondent aux fascicules des conidiophores. Stromas assez développés, globuleux ou irrégulièrement globuleux, brun noir, mesurant 25-40 μm de diamètre.

Conidiophores hypophylles, groupés en fascicules denses ou très denses et sortant par l'ostiole des stomates, toujours simples, érigés ou légèrement tortueux, brun olive, munis de 2-5 cloisons transversales et de 0-2 géniculations; ils ont un apex arrondi, portant une cicatrice brun sombre et mesurent 60-145 x 3-4 μm (fig. 1 et 2).

Conidies obclaviformes, brun olivâtre, généralement arquées, divisées par 3-7 (généralement 5-6) cloisons transversales, à apex conique et base obconique et subtronquée, ornée souvent d'une cicatrice brun noir; elles mesurent 25-65 x 4-5 μm (fig. 3).

* Laboratoire de Cryptogamie, M.N.H.N., 12 rue de Buffon, 75005 Paris.

Source : MNHN, Paris

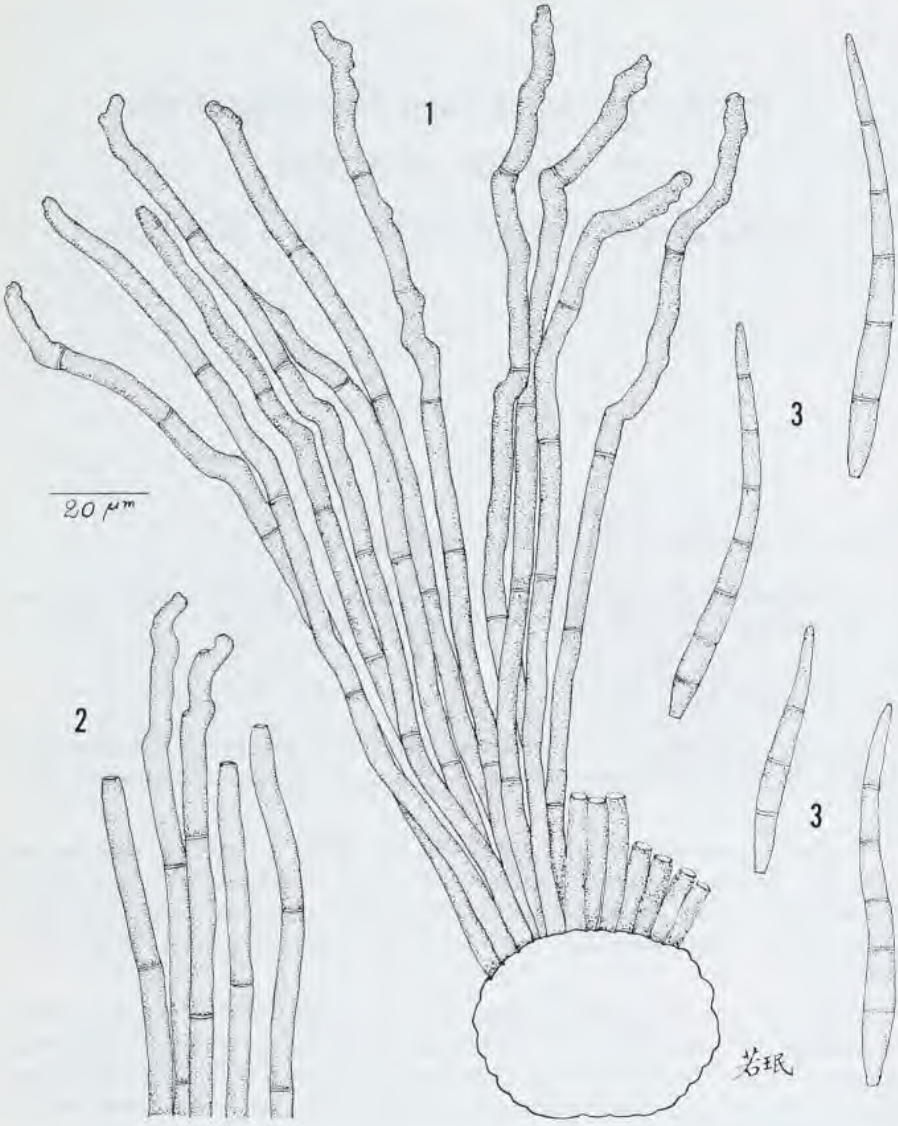


Fig. 1-3. – *Cercospora cassiae-nodosae* Yen: 1, Fascicule de conidiophores âgés; 2, apex des conidiophores; 3, Conidies.

Source : MNHN, Paris

Caractères taxinomiques

D'après les caractères systématiques (stromas développés et macules distinctes), notre champignon ressemble quelque peu aux *Cercospora sphaeroidea* Speg. et *C. assiigena* Yen et Lim (1973), mais ces derniers diffèrent du nôtre par ses fructifications amphiphylles et surtout par ses conidiophores continus ou présentant une seule cloison. Par conséquent, notre récolte doit être considérée comme nouvelle, avec la diagnose suivante :

Cercospora cassiae-nodosae. Maculis amphiphyllis, distinctis, atris, orbicularis vel sub-orbicularibus, dispersis, 1-2 mm diam., raro 2-3 confluentibus. Caespitulis hypophyllis; stromatibus obscure brunneis, globosis vel irregulariter globosis, 25-40 µm diam. Conidiophoris hypophyllis, dense fasciculatis, ex stomatibus oriundis, brunneo-olivaceis, plerumque curvatis, 3-7 septatis, ad apicem conicis, basi obconicis et subtroncatis et cicatribus sporarum manifestibus, 25-65 x 4-5 µm.

Habitat in foliis vivis Cassiae nodosae, Kuala Lumpur, Malaysia, ad Jo-Min Yen (n° 71339), 28 sept. 1971.

Les *Cercospora* parasites du *Cassia*

D'après CHUPP (1953, p. 279 et 280), YEN (1964, p. 212 et 237), YEN (1971, p. 31), YEN et LIM (1973, p. 98 et 99) et le présent mémoire, il existerait 13 espèces de *Cercospora* parasites des feuilles des plantes-hôtes appartenant au genre *Cassia*. Nous proposons, à titre provisoire, la clef taxinomique suivante pour ces 13 espèces :

A. Conidies hyalines
- B. Macules sur les gousses, conidies aciculaires . . . . . *C. cassiocarpa*
- BB. Macules sur les feuilles
  - C. Conidies aciculaires ou cylindriques, 30-50 µm de long *C. chamaecrista*
  - CC. Conidies filiformes ou cylindriques, 22-328 µm de long . . . . . *C. lambareneensis*

AA. Conidies colorées
- B. Stromas développés, macules distinctes
  - C. Conidiophores continus, 6-11 µm de long, conidies cloisonnées (3) . . . . . *C. cassiigena*
  - CC. Conidiophores cloisonnés (0-1), 10-35 µm de long, conidies cloisonnées (3-11) . . . . . *C. sphaeroidea*
  - CCC. Conidiophores cloisonnés (2-5), 60-145 µm de long, conidies cloisonnées (3-7) . . . . . *C. cassiae-nodosae*
- BB. Stromas absents ou très petits, macules distinctes ou indistinctes
  - C. Macules distinctes, conidiophores en fascicules
    - D. Stromas petits, fascicules denses, conidiophores simples . . . . . *C. angustata*

BIBL. DU MUSEUM PARIS

Source : MNHN, Paris

DD. Stromas absents, fascicules maigres, conidiophores ramifiés ou simples . . . . . *C. singaporensis*

CC. Macules distinctes, conidiophores solitaires, stromas absents . . . . . *C. cassiae-alatae*

CCC. Macules indistinctes, fructifications diffuses

D. Conidiophores ramifiés . . . . . *C. nigricans*

DD. Conidiophores simples

E. Fascicules très denses

F. Stromas absents ou petits, conidies cloisonnées (3-9) . . . . . *C. occidentalis*

FF. Stromas absents, conidies cloisonnées (3) . . . . . *C. simulata*

EE. Fascicules maigres (2-6), stromas absents, conidies cloisonnées (3-6) . . . . . *C. cassiae-occidentalis*

BIBLIOGRAPHIE

CHUPP C., 1953 — A Monograph of the genus *Cercospora*. Ithaca, New York, p. 279, 280, 290, 293, 321, 332 et 334.

YEN J.M., 1964 — Étude sur les champignons parasites du Sud-Est asiatique. I. Première note sur quelques nouvelles espèces de *Cercospora* de Singapour. *Rev. de Mycol.* 29: 209-240.

YEN J.M., 1971 — Les *Cercospora* du Gabon. II. Cahiers de la Maboké 9: 31.

YEN J.M. et LIM G., 1973 — Étude sur les champignons parasites du Sud-Est asiatique. XX, Dixième note sur les *Cercospora* de Malaisie. *Cahiers du Pacifique* N° 17: 98-99.

Source : MNHN, Paris

Une Stéréacée nouvelle pour l'Europe

CYPHELLOSTEREUM PUSIOLUM (Berk. & Curt.) Reid 1965

R. BERTAULT *

Au cours de l'automne 1974, le Professeur X. LLIMONA, de l'Université de Barcelone, nous avait invité à faire une nouvelle prospection de la Catalogne. Après d'abondantes récoltes à Collsacreu, nous partîmes le jeudi 31 octobre de Vallgorguina pour Olzanillas, localité à l'est de la Sierra de Montnegre, à 545 m d'altitude, à environ 40 km au nord-est de Barcelone.

Le paysage était dominé par le chêne-liège avec, çà et là, des parcelles acides à *Pteridium aquilinum*. Dans un terrain couvert de noisetiers (*Corylus avellana*), notre regard fût attiré par un champignon peu commun, dont nous n'avions pas la moindre idée.

Dès notre retour à Tanger, l'étude approfondie du carpophore montra qu'il s'agissait d'une Stéréacée proche des genres *Cyphellostereum*, à fructifications dépassant rarement 3-10 mm de haut, ou des *Stereopsis* à stipe plus distinct.

G. MALENÇON nous suggéra un certain *Stereum cyphelloides* Berk & Curt. (1868) qu'il avait eu l'occasion d'étudier en 1926, sur un échantillon en provenance du Tonkin. L'espèce était déjà bien décrite par E.A. BURT (Thelephoraceae of North America, vol. 7, p. 112, 1920). Le *Stereum cyphelloides* est rapporté par D.A. REID (A Monograph of the Stipitate Stereoid Fungi, *Nova Hedwigia*, Heft 18, 1965) au *Cyphellostereum pusiolum* (l. c., p. 342) dont la description s'accorde au mieux avec notre plante.

Un problème restait en suspens, celui des boucles, absentes dans notre échantillon, présentes dans le genre selon J. ERIKSSON & L. RYVARDEN (The Corticiaceae of North Europe, vol. 3, p. 379, 1975). Une correspondance avec J. ERIKSSON nous apprit que sa clé, en contradiction sur ce point avec celle de D.A. REID, ne concernait que les espèces européennes. Car, et c'est là le plus intéressant, ce *Cyphellostereum* n'a jamais été rencontré en Europe.

* Auverse (Maine et Loire).

Source : MNHN, Paris

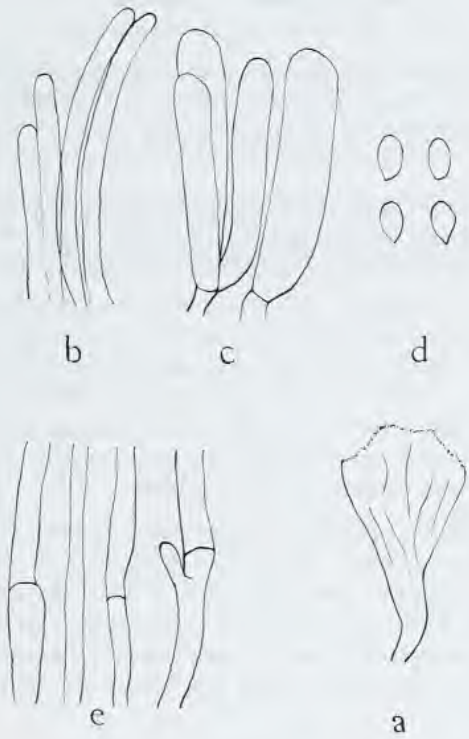
Il est signalé en Amérique du Sud (Cuba, Porto-Rico, Pérou, Bolivie, Jamaïque), en Afrique du Sud, à Madagascar et au Tonkin.

Il est donc du plus haut intérêt de signaler sa présence en Espagne, d'où il a pu émigrer dans l'Europe occidentale. Et c'est pourquoi nous donnons ci-dessous une description personnelle :

Description. – Flabellé, blanc pur, pellucide, mince, haut de 20 mm, large de 6 mm, coriace, à face stérile fibrillée sous la loupe; marge très mince, finement incisée. Hyménium lisse, concolore, devenant ocré à sec. Base progressivement atténuée en stipe cylindracé, à peine comprimé, très court.

Trame épaisse de 800 μm, monomitique, d'hyphes cylindracées, cohérentes, à parois minces, à cloisons rares et sans boucles, larges de 2-4,5 μm, terminées en éléments obtus, serrés, non dilatés. On note çà et là des ébauches de boucles. Aucune trace de cuticule distincte.

Hyménium régulier, à basides claviformes 4-spores : 30-32 x 4,5-6-(7) μm, plus stérigmates de 3,5-4 μm de haut. Spore hyalines, non amyloïdes, ellip-



Pl. I. – A: Un carpophore, x 2,5. B: Extrémités des hyphes de la trame. C: Basides. D: Spores. E: Hyphes de la trame. (Grossissement 1000, sauf pour la fig. A).

Source : MNHN, Paris

soïdes, avec quelques éléments larmiformes: 5-5,5 x 3-3,5μm, à membrane faiblement mais nettement épaissie (0,5-0,6μm crass.).

Le *Stereum pusiolum* a été décrit par Berkeley & Curtis (*J. Lin. Soc. (Bot.)* 10: 330) en même temps que le *St. cyphelloides* (l. c., p. 331). Ce dernier est devenu le *Podoscypha cyphelloides* (B. & C.) Heim & Malençon (*Ann. Crypt. exot.* 1: 59, 1928), puis a été versé dans le genre *Cotylidia* par WEDDEN (*Lloydia* 21: 191, 1889). Ses autres synonymes sont: *Stereophyllum pallens* Karst., *Stereum squamula* Speg., *Thelephora uleana* P. Henn. et *Podoscypha minutula* Pat.

C'est un champignon assez commun en Amérique du Sud, qui semble se plaire en altitude, puisqu'il a été récolté jusqu'à 2400m, près de La Paz, le 28 janvier 1956. Mais c'est à Cuba que les types ont été trouvés (*S. pusiolum* et *S. cyphelloides*).

Très proche du *Cyphellostereum laeve*, qui s'en distingue aisément par ses nombreuses cystides, ses boucles sur les hyphes de la trame et par son habitat surtout muscicole, avec une répartition englobant l'Europe et l'Amérique du Nord, le *C. pusiolum* est donc d'origine extra-européenne.

Source : MNHN, Paris

DISTINCTION HONORIFIQUE

Nous sommes heureux de vous annoncer la nomination, à l'unanimité, de notre Directeur Roger HEIM, par l'Assemblée Générale de l'UICN, réunie à Ashkhâbâd (URSS) du 26 septembre au 5 octobre 1978 pour sa 14ème session, comme Membre d'Honneur de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature et de ses ressources.

Source : MNHN, Paris

ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES

KRYPTO. – General Catalogue, N° 4 : Botany (Biology), 1977.

La librairie spécialisée KRYPTO (Fluck-Wirth) vient de publier un «Catalogue général de Botanique» où figurent toutes les formes de publications : ouvrages personnels, comptes rendus de symposiums, revues, etc. Cet ouvrage de 720 pages contient quelques 5600 références disposées par ordre alphabétique avec un index «matière» et un index «auteurs» qui rendent la recherche aisée. La rubrique «Mycologie» y est importante, (plus de 1600 références) et très complète.

Sans aucun doute ce livre représente un précieux auxiliaire pour les recherches bibliographiques.

G.B. CUMMINS. Rust fungi on legumes and composites in North America. University of Arizona Press; 424 p., 1978.

L'éminent spécialiste des Rouilles qu'est G.B. CUMMINS met sa compétence et sa longue expérience au service des phytopathologistes, mycologues, agronomes et cultivateurs, en publiant un catalogue descriptif des Urédinales recensées en Amérique du Nord, de l'Alaska à l'Amérique Centrale, sur deux familles importantes d'hôtes, les composées et les légumineuses; 355 espèces appartenant à 22 genres sont ainsi méthodiquement décrites et figurées. Les descriptions techniques sont précédées d'une clé d'identification des genres et, pour chaque genre, d'une clé des espèces. Elles comportent les précisions d'usage sur leurs hôtes et leur répartition géographique, et mentionnent le matériel type de l'espèce, avec son hôte et l'herbier où il est déposé. Un index général des noms des champignons, et un index des plantes hôtes, facilitent la recherche des informations.

Les *Puccinia*, avec 150 taxa dont deux espèces seulement sur légumineuses, et les *Uromyces* avec 55 espèces et variétés, sont de beaucoup les rouilles prédominantes dans la région du globe concernée. L'ouvrage peut toutefois intéresser les spécialistes européens, car certains de ces parasites ont une distribution géographique beaucoup plus large; et leurs hôtes comprennent des cultures vivrières ou ornementales importantes dans nos régions, tant parmi les composées (artichaut, laitue, tournesol. . .) que parmi les légumineuses comestibles ou fourragères. Pour l'Amérique tropicale, où le recensement méthodique des rouilles n'a guère commencé qu'il y a une vingtaine d'années, sous l'impulsion de l'auteur, c'est un ouvrage de référence qui fera date dans la connaissance de ces parasites. – J. Nicot.

Source : MNHN, Paris

G. DEYSSON et A. DELCOURT. Cryptogamie (Mycologie générale et appliquée). 380 p., 219 fig. SEDES, Paris, 1978.

Les auteurs publient sous ce titre une synthèse des cours de Cryptogamie professés aux étudiants du cycle normal et du 3ème cycle des Facultés de Pharmacie de Paris. Selon les nécessités et les limites de cet enseignement, ils traitent exclusivement des Cryptogames non vasculaires, et plus particulièrement des Champignons; un court chapitre expose, en annexe, des notions sommaires sur les Algues et les Lichens.

Les caractères fondamentaux des différents groupes de Champignons et la classification des espèces sont présentés dans l'ordre systématique traditionnel, sans toutefois perdre de vue les objectifs propres à l'exercice de la Pharmacie. C'est ainsi qu'à propos des Eurotiales - entre autres exemples - les auteurs insistent sur les caractères biologiques des Aspergillacées et les multiples utilisations des *Penicillium* et des *Aspergillus*; les Gymnoascacées introduisent un chapitre important sur les dermatophytes, leur diagnostic et leur traitement, aussi bien que les caractères culturaux et microscopiques des agents responsables de ces mycoses. On trouvera ailleurs des notions sur les principales maladies des plantes cultivées : mildious, oïdiums, rouilles et charbons, ainsi qu'un chapitre bien documenté sur les intoxications consécutives à l'ingestion de champignons. Des problèmes importants, qui ne trouveraient pas leur place dans un exposé fait en suivant l'ordre de la classification des champignons, ont été traités en annexe : les mycotoxines; la thérapeutique des mycoses; la lutte chimique contre les maladies des végétaux.

L'ouvrage est illustré de dessins au trait, parfois sommaires, et accompagné d'une liste de références bibliographiques fondamentales, qui doit permettre aux étudiants intéressés par la Mycologie et ses applications de préciser les connaissances inévitablement limitées qu'ils auront pu acquérir au cours de leur formation. – J. Nicot.

I. NUSS et H. BESL, 1978 – Seltene oder wenig bekannte Basidiomyceten aus Bayern (I). *Hoppea, Denksch. Regensb. Bot. Ges.* 37: 63-88.

Il peut être utile de signaler à l'attention des mycologues cet article publié dans une Revue à diffusion limitée. Il concerne la récolte, en Bavière, de 13 espèces de Basidiomycètes rares ou mal connus : Trémellales (*Protodontia piceicola*); Aphyllophorales (*Mucronella calva, Phellinus nigrolimitatus* et *P. pini, Byssocorticium* cf. *sartoryi, Dichomitus campestris, Incrustoporia stellae, Tyromyces mollis* et *T. undosus, Buglossoporus pulvinus, Osteina obducta, Polyporus lentus*); Agaricales (*Lentinellus castoreus*). Les auteurs décrivent en détail et figurent la plupart de ces espèces, et précisent leur distribution géographique; la position taxinomique des genres *Byssocorticium* et *Buglossoporus* est plus longuement discutée. – J. Nicot.

Source : MNHN, Paris

NOTE POUR LA PRÉSENTATION DES MANUSCRITS

Les manuscrits seront dactylographiés, en *double interligne*, sans correction ni *surcharge* et au recto exclusivement. Une marge suffisante de 3 cm au moins devra être laissée sur la gauche. Les emplacements auxquels devront être insérés approximativement les tableaux et les figures seront indiqués clairement dans la marge.

Le manuscrit devra être présenté sous la forme suivante :

1. Le *titre* en capitales et non souligné;

2. Le *nom de l'auteur* précédé de l'initiale du prénom (ou des prénoms), suivi de (*), indiquant le renvoi au bas de la page, pour l'adresse.

3. Le *texte* :

– Les titres des chapitres et sous-chapitres ne seront ni soulignés, ni en capitales. Les auteurs devront préciser les subdivisions par des chiffres ou des lettres.

– Les mots qui doivent être en italique, en particulier les noms latins, seront soulignés d'un seul trait droit. Les noms d'auteurs qui suivent les binômes latins ne doivent pas être soulignés.

– Les abréviations conventionnelles devront, lorsqu'elles existent, être employées à l'exclusion de toute autre. Exemple :
SW pour Sud Ouest et non S. W. ou S. O.
m cm mm μm pour les longueurs.
Noter que les abréviations des unités ne doivent jamais être accompagnées d'un point.

– Les références bibliographiques, dans le texte, doivent être indiquées par le nom de l'auteur (ou des auteurs), en capitales et non souligné, sans les initiales des prénoms sauf dans le cas où plusieurs auteurs portent le même nom. Lorsque l'article est signé par plusieurs auteurs, il est admis de n'indiquer que le premier, suivi de «et al.». Ensuite est précisée l'année de publication de l'article cité. Lorsque plusieurs articles du même auteur sont de la même année, une lettre indice portée après l'année précisera la référence, et l'on devra les retrouver dans la Bibliographie. Les rappels bibliographiques par des numéros ne peuvent être acceptés.

– Il convient de ne pas multiplier les notes infra-paginales et même de les éviter.

Source : MNHN, Paris

4. La *Bibliographie* :

– Elle est présentée à la suite du texte, dans l'ordre alphabétique, et pour chaque auteur, l'ordre chronologique. Il en sera de même pour les articles signés par plusieurs auteurs lorsque les noms apparaîtront dans le même ordre. Les références seront *complètes* et suivront les modèles suivants :

Dans le cas d'un article tiré d'un périodique :

PATOUILLARD N., 1881 – Sur l'appareil conidial du *Pleurotus ostreatus*. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 27: 125.

Dans le cas d'une citation extraite d'un ouvrage :

HEIM R., 1957 – *Les Champignons d'Europe*. Boubée et Cie, Paris, T. 2: 220-227.

Dans le cas d'un article tiré d'un ouvrage ou d'une collection signée ou patronnée par un même auteur :

MANDELS G.R., 1965 – Kinetics of fungal growth *in* AINSWORTH et SUSSMAN, The Fungi, Academic Press, N. Y. et Londres, T. 1: 599-612.

5. Les *Légendes des figures* :

Les figures devant passer chez un clicheur alors que les légendes sont envoyées directement chez l'imprimeur, il est indispensable que ces dernières soient dissociées des figures et regroupées à la fin du manuscrit. Veillez à la bonne concordance des numéros des légendes et de ceux des figures.

6. Les *figures* seront fournies sur des feuilles (Bristol ou calque fort) entièrement séparées du reste du manuscrit. Les traits doivent être «noir opaque», le mode de clichage utilisé ne permettant pas la reproduction des demi-teintes.

Les tableaux étant reproduits par le même procédé devront être dactylographiés clairement sans ratures ni surcharge.

Il est indispensable de veiller à la grandeur des chiffres et des lettres et à l'épaisseur des traits en vue de la réduction nécessaire pour que le document tienne dans la justification de la Revue. Cette justification étant de 11,33 x 18 cm, les dimensions optimales du dessin original sont de 17 x 27 cm pour une pleine page.

On dessinera l'*échelle sur la figure,* les indications de grandissement (x 1500) étant prohibées.

Ces indications sont également valables pour les photographies dont l'ensemble, pour une même planche, doit être contrasté de façon homogène. Les auteurs devront fournir la planche montée et, parallèlement, un 2ème jeu de photographies annotées, numérotées, portant au dos le nom de l'auteur et le numéro de la planche.

7. Le nombre de tirages à part demandés par l'auteur devra être indiqué sur la première page du manuscrit, le maximum étant de 200.

Source : MNHN, Paris